

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Departamento de Análisis Instrumental



TESIS DOCTORAL

**Estudio analítico del aceite esencial de diversas especies del
género sideritis**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

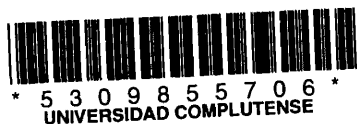
María del Carmen Mateo Grao

DIRECTOR:

José Calderón Martínez

Madrid, 2015

María del Carmen Mateo Grao



X - 5309855706

ESTUDIO ANALITICO DEL ACEITE ESENCIAL DE DIVERSAS ESPECIES
DEL GENERO SIDERITIS

Departamento de Análisis Instrumental
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Complutense de Madrid
1981



BIBLIOTECA

© M^a Carmen Mateo Grao
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1981
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-11173-1981

Este trabajo se ha realizado en la Unidad Estructural de Investigación de Análisis Instrumental del Instituto de Química Orgánica General del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, bajo la dirección del Dr. D. José Calderón Martínez, Profesor de Investigación, y del Dr. D. Jesús Sanz Perucha, Colaborador Científico, a quienes expreso mi más sincero agradecimiento.

Asimismo, agradezco al Dr. D. José Borja Carbonell su extraordinaria ayuda y constante asesoramiento en la parte botánica de este trabajo.

También hago constar mi agradecimiento a la Dirección del Instituto por las facilidades concedidas para la realización del trabajo y al CSIC la concesión de una Ayuda con este fin.

I N D I C E

INTRODUCCION	1
PLAN DE TRABAJO	10
PARTE EXPERIMENTAL	13
I. ACEITES ESENCIALES ESTUDIADOS	13
II. METODOS Y APARATOS	16
A) Obtención del aceite	16
B) Métodos de fraccionamiento	17
-Cromatografía en columna	17
-Cromatografía de gases preparativa	18
-Otras técnicas	18
C) Métodos de identificación y determinación cuantitativa	19
-Cromatografía de gases	19
-Espectrometría de masas	24
-Espectroscopía infrarroja	27
-Resonancia magnética nuclear	27
RESULTADOS Y DISCUSION	28
I. IDENTIFICACION DE LOS COMPONENTES DE ACEITES ESENCIALES DE DISTINTAS ESPECIES DEL GENERO <u>SIDERITIS</u>	28
II. COMPOSICION DE LOS ACEITES ESTUDIADOS	70
III. ESTUDIO COMPARATIVO	71
CONCLUSIONES	98
BIBLIOGRAFIA	102

INTRODUCCION

La gran diversidad de la flora española justifica el interés creciente de una exploración sistemática de la misma con objeto de detectar la presencia y abundancia de productos que puedan ser interesantes como materias primas de valor en diversos campos industriales.

Dentro de esta flora destaca la presencia de numerosas plantas aromáticas, muchas de ellas de carácter endémico, que abundan en determinadas regiones de nuestra geografía de climatología adecuada. Una cantidad mínima de ellas se vienen utilizando desde hace tiempo como fuentes de valiosos aceites esenciales. Sin embargo, existen otras hasta la fecha no estudiadas, que podrían conducir a nuevos tipos de aceites de una riqueza potencial insospechada, que tenemos la obligación de conocer.

En "La Industria Química de España" de 1978, órgano del Consejo Superior de las Cámaras Oficiales de Comercio y Navegación, se destaca la importancia de la industria de aceites esenciales, indicando que la producción española sobrepasó los 2.000 millones de pesetas en dicho año.

La principal industria consumidora de estos productos es la de perfumería, siguiéndole en importancia en cuanto a consumo, la de alimentación (bebidas refrescantes, helados, licores, etc.).

Se conocen y emplean muchos centenares de aceites esenciales. Sólomente la relación de los tipos principales, que se incluyen en las Notas Explicativas del Arancel Español, figuran más de un centenar. En España se producen también más de un centenar de tipos y se utilizan por lo menos dos centenares.

Desde un punto de vista convencional consideramos el aceite esencial como una mezcla compleja, insoluble en agua, constituida principalmente por derivados terpénicos, que se obtiene por destilación con vapor de agua directamente de la planta. Sin embargo, se denominan también aceites esenciales a extractos obtenidos por expresión, extracción, etc., donde pueden figurar también productos no volátiles.

La composición del aceite varía mucho según su procedencia, presentándose en general muchos componentes, que dependen no sólo del género del vegetal sino también de su especie. Incluso dentro de una misma especie, pueden darse distintos quimiotipos, que en ocasiones proceden de plantas con caracteres botánicos idénticos.

Los componentes de un aceite esencial aparecen en concentraciones muy diversas. En algunos casos el componente fundamental puede estar en una concentración superior al 80%. Un gran número de ellos existen en cantidades traza, y se requieren métodos muy precisos para su detección. El número de componentes identificables en un aceite depende, por lo tanto, de la sensibilidad y resolución del método analítico empleado, llegando en las mejores condiciones operatorias a la detección de más de un centenar. Desde un punto de vista cuantitativo, consideraremos como componentes fundamentales aquellos cuya concentración supere el 10%, menores cuando esté comprendida entre el 1 y 9%, microcomponentes

tes entre el 0,1 y 0,9%, y componentes traza cuando no alcanza el 0,1%.

Entre estos componentes destacan, como hemos dicho, los de naturaleza terpénica, casi exclusivamente mono y sesquiterpenos acíclicos, monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos. Pero aparecen también compuestos no terpénicos tanto alifáticos como aromáticos. Todos estos compuestos presentan una funcionalidad muy variada, encontrándose entre ellos hidrocarburos, ésteres, éteres, aldehídos, cetonas, alcoholes, fenoles y ácidos.

Las plantas de donde proceden los aceites pertenecen a las familias más diversas. Un estudio sistemático de nuestra flora, sobre todo de la endémica que no ha sido hasta la fecha seriamente acometido, puede conducir, como ya hemos apuntado, a resultados importantes.

Además del interés por su posible aplicación industrial el estudio analítico de los aceites esenciales es también interesante desde el punto de vista científico, y puede considerarse incluido en el campo de los productos naturales, ya que su objeto inmediato es la determinación de la estructura química y la proporción de los componentes de la fracción volátil separada de las plantas.

Los problemas a resolver se pueden resumir en los siguientes puntos:

1. Selección de los métodos instrumentales que permitan obtener las condiciones óptimas de trabajo para la separación, identificación y determinación de las proporciones de los componentes del aceite esencial, e introducción de adaptaciones instrumentales en relación con las características del problema concreto y de aná-

lisis de datos.

2. Estudio de la composición de los aceites esenciales de plantas no estudiadas y determinación de la estructura de nuevos compuestos.

3. Determinación de las posibles modificaciones de los componentes del aceite esencial por causa del método de separación utilizado (productos de descomposición y de transformación).

4. Estudio e interpretación de los cambios de composición del aceite esencial con la variación de condiciones, como época y hora de recogida de la planta, proceso de obtención, cambios de suelo y clima para una misma especie, procesos de cultivo, etc.

5. Propuesta de caminos biogénéticos que expliquen el origen y la relación entre los componentes del aceite esencial a través de procesos biosintéticos o de descomposición.

6. Comparación de los resultados en plantas de la misma especie, e interpretación de las diferencias observadas, así como de las posibles semejanzas encontradas en la composición de aceites esenciales de diferentes orígenes.

7. Aislamiento y purificación de productos contenidos en el aceite esencial que por su aroma sean de interés para la industria de cosméticos o de la alimentación, por su posible actividad biológica o como productos de partida en la síntesis de compuestos de utilización industrial.

8. Establecimiento de normativas para el control de calidad y fraudes.

9. Determinación de los cambios que en la composición del aceite esencial pueden producir los procesos de envejecimiento.

Hace unos cuatro años, un grupo de trabajo del Instituto de Química Orgánica General del Consejo Superior de Investigaciones Científicas inició un proyecto de investigación de los aceites esenciales. En la primera parte de este trabajo, que contó con nuestra intervención directa, se pretendía desarrollar los dos primeros puntos que acabamos de exponer, es decir, adaptar al estudio de aceites concretos las técnicas analíticas de que disponía el equipo de trabajo, para luego aplicarlas a la exploración de los aceites procedentes de la flora nacional.

Me fue especialmente encomendada la aplicación de dichas técnicas a un aceite comercial, del que podíamos disponer de cantidades ilimitadas, concretamente del conocido con el nombre de "Mejorana", que procede del Thymus mastichina L. de la familia de las Labiadas, suministrado por la firma comercial "Destilaciones García de la Fuente" de Granada. El estudio de este aceite constituyó el trabajo experimental de nuestra Memoria de Licenciatura, que fue presentada en la Universidad de Zaragoza en 1977, con el título de "Estudio analítico del aceite esencial de Mejorana (Thymus mastichina L.)".

Antes de iniciar el presente trabajo, y con objeto de familiarizarme con la temática e instrumentación utilizada en el caso de los aceites esenciales, colaboré en un trabajo de equipo donde estudiamos la composición de los aceites obtenidos de doce especies de Thymus (1). La comparación entre las distintas composiciones nos permitió determinar la identidad entre el aceite comercial de Mejorana y el de una muestra de Thymus mastichina L. recogida por nosotros en Collado Mediano (Madrid).

A continuación, y dentro de la orientación de trabajo del equipo, nos pareció oportuno revisar la bibliografía sobre aceites esenciales de algún género de la familia de las Labiadas, cuyo estudio pudiera constituir el trabajo experimental de nuestra Tesis Doctoral. Después de una búsqueda bibliográfica exhaustiva nos decidimos por el género Sideritis, que presenta numerosos endemismos, y muchas de cuyas especies se encuentran localizadas especialmente en el extremo oriental de la Península. Este género ha sido estudiado en nuestro Instituto por otro grupo de trabajo, pero su estudio ha estado dirigido a terpenos de orden superior. Los aceites esenciales de Sideritis no han sido estudiados hasta la fecha. Se ha intentado únicamente determinar el componente oloroso de una especie sin conseguir este objetivo (2).

Desde el punto de vista botánico, el género Sideritis pertenece a la familia de las Labiadas, tribu Estaquideas y tiene las siguientes características generales: Plantas herbáceas, sufruticosas o pequeños arbustos, vellosas, vellosa-tomentosas o glabrescentes con glándulas de esencia que les comunican un olor hircino característico; tallos cuadrangulares, hojas opuestas lineares, lanceoladas u orbiculares, lobuladas o aserradas, inermes o espinosas; flores generalmente en número de seis en la axila de brácteas, dispuestas en verticilastros distanciados o imbricados formando espigas; brácteas aovado-lanceoladas, acorazonadas o semiorbiculares espinoso dentadas; cáliz tubuloso acampanado con o sin carpostegio; corola bilabiada, blanca, amarilla, violácea o purpúrea con el tubo incluído o exerto, el labio superior erguido entero o bífido y el inferior con el lóbulo medio más grande y escotado. Estambres didínamos, incluidos. Fruto tetranuculáneo con la núculas redondeadas en el ápice envueltas por el cáliz persistente.

La Península es muy rica en especies de este género

(más de treinta) de las que unas veinte son endemismos. Son eminentemente heliófilas, pues rehuyen el bosque y el matorral denso, calcícolas, aunque también algunas acidófilas.

Respecto a su dispersión general en la Península, diremos a grandes rasgos, que exceptuando las S. ovata y S. lurida, endemismos del Norte, la S. hyssopifolia del Pirineo y Cantabria, y la S. glacialis de los pisos subalpinos de Sierra Nevada, Sierra Tejeda y Sierra de Gador, etc., las restantes son netamente mediterráneas. La provenzal S. endressii penetra algo en Cataluña litoral, la S. bubanii de zonas prepirenaicas; en yesos y margas selitrosas en Huesca y Lérida la S. ilicifolia; la S. spinulosa en el centro y sur de Aragón, la S. scordioides cavanillesii por toda la cuenca del Ebro, así como la S. linearifolia de los altiplanos de Castilla la Vieja y de Aragón. En Levante la S. tragoriganum de las bajas montañas litorales y la S. angustifolia en zonas submontanas de Valencia y de Alicante; de la Meseta manchega albaceteña son la S. mugronensis y la S. serrata de Tobarra; la S. leucantha tiene su centro genético en Alicante con irradiaciones hacia provincias vecinas; también alicantinas y muy localizadas la S. glauca y la S. chamaedryfolia. En el complejo hibridógeno del Sur-Este, la S. flavovirens de Murcia y la S. pusilla de Almería con diversas formas: osteoxyla, almeriensis, etc. En el Sur las acidófilas, la S. lacitae de Sierra Morena y Cordillera Oretana, la S. paulii y la S. luteola de la Sierra de Filabres (Almería), estas dos últimas subordinadas a la polimorfa S. arborescens de más amplia dispersión por el litoral andaluz desde Granada hasta Cádiz. Un bello endemismo muy localizado en las sierras calizas de María y Maimón de Almería es la S. stachydioides. En Málaga y Granada, la S. granatensis, S. reverchonii y las críticas S. lagascana y S. funkiana. Las dos especies de mayor extensión peninsular son la S. hirsuta y S. incana que van desde el Pirineo hasta Andalucía.

En las zonas de contacto de estas plantas se observan además de las introgresiones naturales, numerosos híbridos que dificultan la labor sistemática de los botánicos; concretamente existen dos de estos complejos hibridógenos: Levante con S. tragoriganum, S. angustifolia, S. leucantha y el Sur-Este con S. pusilla, S. flavovirens y S. leucantha en los que existen una explosión de híbridos, razas ecológicas, microespecies, todos de imprecisa y borrosa diferenciación morfológica, genética y fitoquímica que a juicio de los botánicos quizás con el tiempo y a través de mutaciones, evolucionen hacia formas específicas concretas y estables.

Finalmente, debemos mencionar el uso popular de las Sideritis (llamadas vulgarmente "rabos de gato" en Castilla, Aragón, Valencia, Cataluña y "sajareñas" en Andalucía) como antiinflamatorios en fomentos sobre heridas y contusiones y al interior contra las gastritis y úlcera de estómago. En la actualidad existen laboratorios en España y el extranjero que elaboran especialidades farmacéuticas con el extracto de estas plantas.

A continuación exponemos un "Cuadro Sinóptico Botánico" (Tabla I), que nos ha proporcionado el Dr. J. Borja, al que ajustamos la ordenación de las especies estudiadas en este trabajo, que son las siguientes: S. flavovirens, S. leucantha, S. hirsuta, S. incana, S. chamaedryfolia, S. tragoriganum, S. pusilla, S. foetens, S. serrata, S. mugronensis, S. spinulosa, S. angustifolia, S. arborescens, S. hyssopifolia, S. ilicifolia y S. linearifolia. En la Parte Experimental se informa del lugar y fecha de recogida de cada una de ellas.

TABLA I

CUADRO SINOPTICO DE GRUPOS Gen. SIDERITIS

J. Dorja Carbonell

Especies anuales	J. Dorja Carbonell			
	Tallo sub-herbáceo	Hojas espinoso-pungentes	Cáliz sin carpóstagio	Corola purpúrea
S. montana L. S. romana L.	S. ovata Cav. S. lurida J. Gay S. grandiflora Salzm.	S. ilicifolia Willd. S. spinulosa Barn. ex Asso. S. serrata Cav. ex Lag. S. rodriguezii Dorja (hydr.)	S. incana L. (grev) S. glauca Cav. S. laciniata F. Q.	S. stachydoides Wk. S. hirsuta L. (grev) Addenda provis.
Especies perennes	Tallo sufruticoso o leñoso	Hojas no espinoso-pungentes	Cáliz con carpóstagio	Corola bicolor
			Plantas glabrescentes (excepto la inflorescencia)	S. foetens Clem. ex Lag. S. arborescens Salzm. (grev) S. linearifolia Lamk.
			Plantas villosas o vellos tomentosas	S. flavovirens (Rouv) Riv. Gud et Gomez S. scordifolia L. (grev) S. chamaedryfolia Cav. S. leucantha Cav. (grev) S. valvulata (hydr.) S. pusilla (Lag) Pau (grev) S. granatensis (Pau) Dorja S. glaciata Boiss. S. hyssopifolia L. (grev)
			Brácteas de la base de las espigas más cortas que los verticilastros	S. tragonum Lag. S. mugronensis Dorja S. angustifolia Lag. (grev) S. reverchonii Wk. S. lagasana Wk. S. funkiana Wk.
			Brácteas de la base de las espigas más largas que los cálizos	

PLAN DE TRABAJO

Como se ha indicado en la introducción, el objetivo propuesto es fundamentalmente la identificación y determinación cuantitativa de los componentes del aceite esencial de diversas especies del género Sideritis, cuya relación se da en la Parte Experimental. Asimismo, haciendo uso de los resultados de dicho análisis y mediante la utilización de técnicas adecuadas de tratamiento de datos, se pretende establecer agrupaciones de las especies que presentan similitudes entre sí, y ver si concuerdan con la clasificación botánica de la Tabla I.

Por otra parte, en algunos casos particulares, trataremos de comparar la composición de los aceites esenciales de plantas de una misma especie, recogidas en lugares distintos con objeto de estudiar la influencia de factores climatológicos, edáficos, etc.

En primer lugar, la planta recolectada por nosotros, una vez seca y molida, se someterá a una extracción con vapor de agua para la obtención del aceite. Para tener una idea aproximada de la composición y complejidad de este aceite, se registrará el correspondiente cromatograma de gases.

Como en general, el número de componentes de un aceite esencial es muy elevado, será necesario realizar un fraccionamien-

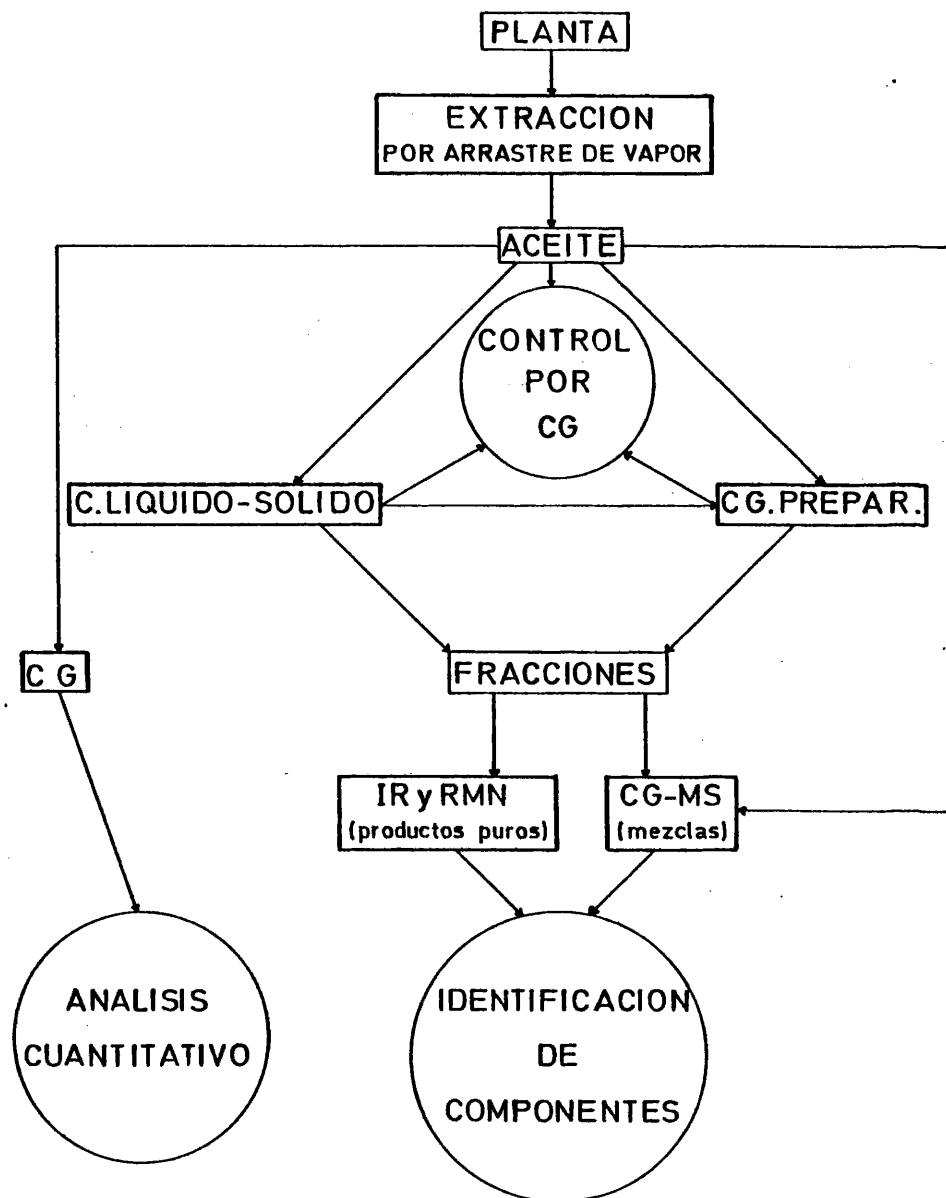
to del mismo para facilitar su identificación. Este se realizará por cromatografía líquido-sólido y de gases preparativa, o por combinación de ambos métodos. De esta forma se obtendrán fracciones más enriquecidas de algunos componentes o incluso productos puros.

El control de las fracciones obtenidas se realizará por cromatografía de gases para obtener información sobre los resultados de los métodos de fraccionamiento o separación. De esta forma podremos decidir sobre la conveniencia de aplicar la técnica instrumental más idónea para la identificación de los diversos componentes.

Para productos puros, cuando exista suficiente cantidad de material, se podrán combinar las técnicas de determinación de estructuras, especialmente, las espectroscopías de ultravioleta, infrarrojo, resonancia magnética nuclear y masas, y también la polarimetría. Especialmente útil para identificar los componentes en fracciones constituídas por mezclas enriquecidas de los mismos se manifiesta la cromatografía de gases, y sobre todo, la alternativa del acoplamiento cromatografía de gases-espectrometría de masas, que será para nosotros la técnica fundamental para la identificación de dichos componentes.

Las proporciones de los componentes en el aceite original se calcularán a partir de sus cromatogramas de gases.

En la figura 1 se representa el esquema básico de trabajo que utilizaremos en nuestro estudio, de acuerdo con la exposición detallada anteriormente.



P A R T E E X P E R I M E N T A L

I. ACEITES ESENCIALES ESTUDIADOS

En la Tabla II se muestran las especies de Sideritis recogidas por nosotros para el estudio de sus aceites esenciales. En primer lugar, aparece una signatura cuya primera cifra indica la última del año en que se recolectó, a continuación de la "S" indicativa de Sideritis, un número que indica la especie, y luego, cuando se trata de más de una muestra, un número de orden. En la segunda columna se expone la especie, en la tercera el lugar de recogida, y por último, la fecha de recolección.

Nótese que hay especies de las que se han estudiado varias muestras. Concretamente la S. hirsuta se ha recogido en trece lugares diferentes, siendo especie genuina únicamente la de las Cuestas del Ragudo. Las otras están hibridadas en mayor o menor grado con la S. arborescens. Otra especie que también se hibrida fácilmente y de la que se han recogido varias muestras, es la S. tragoriganum. La procedente de Torreblanca es especie genuina, las demás están hibridadas, bien con la S. leucantha o con la S. angustifolia. Por último, hay varias especies de las que se han estudiado dos muestras, bien procedentes de lugares distintos, bien de años diferentes, o dentro de un mismo año de diferente época. Los dos aceites de S. foetens corresponden a cabezas y tallos.

TABLA II

Especies del género Sideritis estudiadas

Sign.	Especie	Origen	Cosecha
5S1	<u>S. flavovirens</u> Riv. God. et Gomez	Mazarrón (Murcia)	5-75
9S1	"	"	5-79
5S2	<u>S. leucantha</u> Cav.	El Altet (Alicante)	5-75
8S2	"	"	6-78
7S3	<u>S. hirsuta</u> L. (hybr.)	Arganda (Madrid)	6-77
8S3/1	"	Yepes (Toledo)	6-78
8S3/2	"	Morata de Tajuña (Madrid)	6-78
8S3/3	"	Bº Infierno (Madrid)	6-78
8S3/4	"	Valencia ?	7-78
8S3/5	"	Pº Cabrejas (Cuenca)	7-78
8S3/6	" (gen.)	Cuestas de Ragudo (Castellón)	7-78
9S3/7	" (hybr.)	Ciruelos (Toledo)	6-79
9S3/8	"	Campo Real (Madrid)	6-79
9S3/9	"	Arganda-Morata (Madrid)	6-79
9S3/10	"	Alcalá de Henares (Madrid)	7-79
9S3/11	"	Tejadilla (Segovia)	7-79

9S3/12	<u>S. hirsuta</u> L. (hybr.)	Ciruelos (Toledo)	7-79
9S4	<u>S. incana</u> L.	Torija-Brihuega (Guadarañara)	6-79
8S5	<u>S. chamaedryfolia</u> Cav.	Villena (Alicante)	7-78
S6	<u>S. tragoriganum</u> Lag.	Torreblanca (Castellón)	Anterior al 77
8S6/1	<u>S. tragoriganum</u> x <u>S. leucantha</u>	Villajoyosa (Alicante)	6-78
8S6/2	<u>S. tragoriganum</u> Lag. (hybr.)	Pº Albaida (Valencia)	6-78
8S6/3	"	La Eliana (Valencia)	6-78
7S7/1	<u>S. pusilla</u> (Lge) Pau	Níjar (Almería)	7-77
7S7/2	"	Adra (Almería)	7-77
7S8/1	<u>S. foetens</u> Clem. ex Lag (sólo cabezas)	Aguilas (Murcia)	7-77
7S8/2	"	"	7-77
7S9	<u>S. leucantha</u> Cav. subsp. <u>bourgeana</u> Boiss. Reut.	Tobarra-Hellín (Albacete)	7-77
9S9	"	"	7-79
8S10	<u>S. serrata</u> Lag.	Tobarra (Albacete)	5-78
8S11	<u>S. mugronensis</u> Borja	El Mugrón, Almansa (Albacete)	6-78
8S12	<u>S. spinulosa</u> Barn. ex Asso.	Teruel	6-78
S13	<u>S. angustifolia</u> Lag.	Canal de Navarés (Valencia)	Anterior al 77
S15	<u>S. arborescens</u> Salzm.	Carratraca (Málaga)	Anterior al 77
9S16	<u>S. hysopifolia</u> L.	Valporquero (León)	7-79
S17	<u>S. ilicifolia</u> Willd.	Entre Bujaraloz (Zaragoza) y Peñalba (Lérida)	Anterior al 77
S18	<u>S. linearifolia</u> Lamk.	Arcos de Jalón (Soria)	Anterior al 77

II. METODOS Y APARATOS

En este apartado describiremos las técnicas y aparatos que hemos empleado o puesto a punto, las condiciones específicas de trabajo en cada caso, y los criterios seguidos en el análisis cualitativo y cuantitativo de los componentes de los aceites esenciales estudiados.

A) Obtención del aceite

Una de las características fundamentales de un aceite esencial es su relativa volatilidad. Por ello, la destilación es la técnica más adecuada para la obtención del aceite esencial, ya que separa los componentes volátiles de la planta de los restantes.

Hemos elegido la destilación por arrastre de vapor por tratarse de un sistema de destilación a temperaturas relativamente bajas.

El aparato empleado es del tipo Clevenger (figura 2) lige

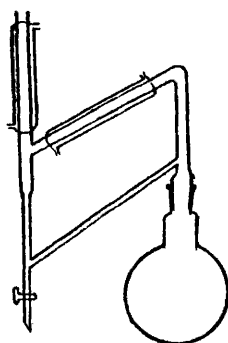


Figura 2

ramente modificado por nosotros. En el matraz de destilación se sumerge en agua la planta seca y molida. El diseño es tal que permite realizar el arrastre de los volátiles en corriente de vapor con recirculación del agua. Al final se recoge el aceite que sobrenada sin necesidad de introducir ningún disolvente.

En ciertos casos, el aceite obtenido por arrastre de vapor presenta un olor diferente que el propio de la planta. Esto puede ser debido a la acumulación en aquél de determinados componentes, y a la pérdida de otros solubles en el agua. Por ello creímos interesante poner a punto algún método que permitiera separar el aroma directamente de la planta. Con este fin se ha montado un aparato que permite el arrastre suave del aroma con nitrógeno seco. La corriente se hace pasar luego por una sucesión de trampas enfriadas con nieve carbónica o por carbón activo. En ambos casos el aroma es retenido. Los volátiles pueden recuperarse del carbón activo por elución con un disolvente apropiado.

B) Métodos de fraccionamiento

Cromatografía en columna

Esta técnica se ha utilizado para conseguir un fraccionamiento del aceite original, facilitando de este modo su estudio. En algún caso, fracciones separadas en una primera operación han sido recromatografiadas. En general, se han conseguido fracciones enriquecidas en alguno de sus componentes, y a veces, la separación en estado puro de los mayoritarios. El control de las fracciones se ha realizado fundamentalmente por cromatografía de gases.

Para el fraccionamiento de los aceites o de las fraccio-

nes de éstos se han utilizado columnas de tamaño adecuado. Por gramo de material se cargaron con 45 g de gel de sílice de 0,063-0,200 mm (70-270 mallas ASTM) (Merck, 7734).

En todos los casos los eluyentes fueron hexano y éter. Con hexano se eluyeron los hidrocarburos, y aumentando gradualmente la polaridad, por adición de cantidades crecientes de éter, fueron apareciendo ésteres, cetonas, éteres, y por último, los alcoholes. Al final, se eluyó con metanol para arrastrar algún componente muy polar, que pudiera quedar retenido en la columna.

Cromatografía de gases preparativa

Se ha empleado también en gran extensión la cromatografía de gases preparativa en el fraccionamiento del aceite y especialmente en la obtención de productos puros. De su fundamento y condiciones de operación hablaremos al tratar de la cromatografía de gases.

Otras técnicas

Aunque a lo largo del trabajo las técnicas de fraccionamiento que hemos utilizado con carácter general han sido las citadas anteriormente, en casos particulares se ha empleado la cromatografía en capa fina para la obtención de productos puros a partir de fracciones enriquecidas separadas por cromatografía en columna.

Se ha puesto también a punto, utilizando aceites comerciales, la destilación con banda rotatoria para el fraccionamiento de los aceites. Aunque el método es muy valioso, hemos tropezado con el inconveniente de disponer de insuficientes cantidades de acei

te, cuando lo obtuvimos directamente de la planta.

C) Métodos de identificación y determinación cuantitativa

Cromatografía de gases

La cromatografía de gases es la técnica fundamental utilizada en este trabajo. Es la técnica de separación más eficiente y resolutive, y por tanto, la más adecuada para el estudio de mezclas tan complejas como son los aceites esenciales. Su aplicación ordinaria es la analítica, pero también se usa con fines preparativos. Desde el punto de vista del análisis cuantitativo puede decirse que no hay otra técnica que compita con ella en el análisis de mezclas complejas de compuestos volátiles. Su aplicación exacta es delicada, y requiere normalmente hacer uso de métodos de calibración.

Identificación de componentes. - El método clásico para identificar por cromatografía de gases una sustancia consiste en comparar su retención con las retenciones de especies definidas (patrones), siendo fundamental, por consiguiente, la medida experimental exacta de esta constante. Los cromatografistas se han esforzado en buscar el parámetro de retención más independiente de las condiciones operatorias, para que sea más fácilmente reproducible la medida, no sólo en el propio laboratorio sino en el de otros analistas, con el fin de que se puedan utilizar las retenciones tabuladas de las diversas sustancias, medidas en condiciones perfectamente reproducibles. Sólo en estas condiciones se puede hacer uso de los datos bibliográficos.

La expresión adecuada de los datos de retención en cromatografía de gases es uno de los problemas más discutidos. Re-

mitimos al trabajo de Cremer y Gruber (3), en que se describen cinco parámetros de retención absolutos y relativos, utilizables para la caracterización de sustancias en el cromatograma. De ellos los más recomendados son: la "retención relativa" y el "índice de retención o de Kovats". Sin embargo, estos parámetros no son muy adecuados en nuestro caso. El número de componentes posibles en un aceite esencial es muy elevado. Dada la complejidad de los aceites que estudiamos, habrá numerosas coincidencias entre las retenciones relativas e índices de retención de "posibles" componentes, y las que corresponden a los realmente existentes en el aceite, sobre todo teniendo en cuenta el error permisible en estos casos.

Con fines de identificación hemos preferido por este motivo la técnica de "enriquecimiento del pico", que consiste en mezclar la muestra con una pequeña cantidad de patrón, y en comparar el cromatograma de la mezcla con el de la muestra. Si el patrón no existe en la muestra, se observará que el cromatograma de la mezcla contiene un pico más. Si está presente en ella, se observará en ambas el mismo número de picos; sin embargo, el que corresponde al compuesto patrón tendrá una intensidad relativa distinta en los dos cromatogramas.

Esta técnica es más precisa que el uso de retenciones relativas e índices de retención, pero presenta el inconveniente de conducir a identificaciones falsas en el caso de que los dos componentes tengan el mismo tiempo de retención. Para confirmar la identificación se repite la experiencia utilizando otra fase estacionaria.

La limitación que presenta esta técnica estriba en la dificultad de disponer de los patrones necesarios. Por tanto, noso-

tros hemos utilizado en la mayoría de los casos el acoplamiento cromatografía de gases-espectrometría de masas para conseguir un mayor grado de certeza.

Análisis cuantitativo. - La cromatografía de gases es la única técnica que permite la determinación cuantitativa rápida de los diversos componentes de una mezcla compleja, aunque no hayan sido identificados. Los cálculos cuantitativos se basan siempre en la medida de áreas, pues se ha establecido entre el área de un pico y la cantidad del componente que lo ha producido la siguiente relación:

$$Q_i = A_i \cdot k_i$$

donde Q_i es la cantidad de componente i , A_i el área del pico, y k_i un factor de sensibilidad, que depende de la estructura del compuesto y del tipo y sensibilidad del detector empleado. En nuestro caso al utilizar un detector de ionización de llama, y teniendo en cuenta los componentes habitualmente presentes en los aceites esenciales, hemos adoptado la simplificación de suponer k_i constante para todos los picos del cromatograma. Si utilizamos k para el valor de este factor de sensibilidad, tenemos $Q_1 = A_1 \cdot k$, $Q_2 = A_2 \cdot k$, etc., y de aquí

$$Q_1/Q_2 = A_1/A_2 \quad (1)$$

lo que indica que existe una proporcionalidad directa entre las cantidades de los diversos componentes y las áreas de sus picos. Para un componente i podríamos escribir,

$$Q_i / \sum Q_i = A_i / \sum A_i$$

El primer término es la concentración del componente i en el aceite, y el segundo puede calcularse a partir del cromatograma. Esta fórmula, la más utilizada, da lugar sin embargo, a errores al ser aplicada a nuestro caso, debido a la dificultad de calcular $\sum A_i$ por la existencia de numerosos picos de áreas muy pequeñas y de otros que no están totalmente resueltos.

La técnica alternativa es la del patrón interno. Consiste en añadir al aceite esencial una cantidad previamente pesada de un patrón (en nuestro caso tridecano), con el fin de obtener una mezcla en la que conocemos para un compuesto (el patrón) su concentración relativa. Si en la ecuación (1) dividimos el numerador y el denominador del primer término por $\sum Q_i$, obtenemos

$$C_1/C_2 = A_1/A_2$$

donde C_1 y C_2 son las concentraciones en el aceite de los compuestos 1 y 2. A partir de esta ecuación y conociendo la concentración del patrón, podemos calcular mediante la medida de áreas, los porcentajes de los diferentes componentes en la mezcla y en la muestra original.

Al prescindir de los "factores de respuesta", los resultados obtenidos por los dos métodos anteriormente descritos, deben ser considerados como semicuantitativos. No obstante, son los más usados en el estudio de los aceites esenciales. Realmente otros métodos más exactos nos están vedados al no poder disponer de patrones de cada uno de los componentes para la determinación del correspondiente "factor de respuesta".

Nosotros consideraremos en principio, que los mejores resultados se obtienen por el método del patrón interno, y es el

que hemos seguido en la mayoría de los casos, aunque debido al enorme número de componentes de los aceites, a su distinta volatilidad y a otras circunstancias, se admiten márgenes de error de cierta consideración, sobre todo para los componentes minoritarios.

La medida de las áreas de los picos se ha realizado por el método general, multiplicando la altura del pico por su anchura a la semialtura.

Condiciones operatorias. - El estudio analítico lo hemos realizado con un cromatógrafo de la firma Perkin-Elmer, modelo 3920, con detector de ionización de llama.

La experiencia en el estudio de otros aceites esenciales nos ha puesto de manifiesto que los mejores resultados se obtienen con columnas capilares. Con este tipo de columnas se consigue mayor resolución, y éste es un factor definitivo dada la complejidad de nuestras muestras.

Las características de la columna analítica más usada son las siguientes: Columna capilar abierta de vidrio de 48 m de longitud y 0,2 mm de diámetro interno, con Carbowax 20M como fase estacionaria. La hemos preparado estirando un tubo de vidrio Pyrex de 7,8 mm de diámetro exterior y 2 mm de diámetro interior en un aparato de la casa Hupe. Se rellenó por el método dinámico, por impregnación con una solución al 8% de Carbowax 20M en cloruro de metileno con BTPPC al 1% respecto a la fase, como agente tensoactivo.

En la cromatografía de gases preparativa se empleó un cromatógrafo Perkin-Elmer, modelo F21, especial para esta técni

ca, con detector de ionización de llama. En este caso empleamos una columna de acero inoxidable constituida por cuatro unidades en forma de U de 0,9 m de longitud, 9,5 mm de diámetro exterior y 8 mm de diámetro interior. Fue preparada en nuestro laboratorio empleando Chromosorb G como soporte y Carbowax 20M como fase estacionaria, por el método de evaporación. La concentración de la fase es decreciente para cada módulo de la columna, pasando del 7% en el primero al 4% en el último.

En ambos casos, cromatografía de gases analítica y preparativa, se ha utilizado como gas portador nitrógeno, a presiones de 1 kg/cm^2 y $1,2 \text{ kg/cm}^2$ respectivamente, presiones que corresponden a velocidades del gas portador que conducen a una eficacia máxima.

Otro factor que se ha tenido en cuenta para obtener una buena resolución con la máxima eficacia posible es la temperatura. Se ha considerado como óptima la programación 80-170°C, a 30/min, permaneciendo 8 minutos a la temperatura inicial, y manteniendo la temperatura final hasta que hayan salido todos los componentes.

Espectrometría de masas

La espectrometría de masas ha alcanzado una gran importancia como medio de identificación y esclarecimiento de estructuras de compuestos orgánicos, siendo actualmente una técnica tan usual como la cromatografía de gases y las espectroscopías infrarroja, ultravioleta y de resonancia magnética nuclear.

En el análisis de mezclas complejas, el interés de la

espectrometría de masas estriba en la posibilidad de utilizar un sistema de separación previo, en este caso la cromatografía de gases. El acoplamiento de ambas técnicas está considerado como el método ideal para la identificación de productos existentes en cantidades traza en mezclas complejas, donde se une el poder separador de la cromatografía de gases a la gran sensibilidad de la espectrometría de masas.

Al aplicar el acoplamiento cromatografía de gases-espectrometría de masas al caso de los aceites esenciales, resulta fácil la identificación si se dispone del correspondiente patrón. Basta con comparar el espectro de éste con el obtenido durante la elución del compuesto problema. Además, la identificación puede completarse mediante el empleo de los tiempos de retención.

Si el compuesto es desconocido, y su espectro no coincide con el de ninguno de los patrones de que disponemos o con los reproducidos en la bibliografía, ha de intentarse una interpretación lo más completa posible para poder disponer de algunos datos estructurales del compuesto. El esclarecimiento de la estructura podrá completarse si se logra separar el compuesto de la mezcla por alguno de los métodos referidos anteriormente.

Para facilitar la aplicabilidad de esta técnica a nuestro trabajo, hemos intentado conseguir todos los patrones posibles y hemos registrado sus espectros de masas. También disponemos de una colección de espectros procedentes de la bibliografía que corresponden a productos de carácter terpénico o de otros que aparecen frecuentemente en los aceites esenciales.

El espectrómetro de masas utilizado es un Hitachi-Perkin-Elmer, modelo RMU-6MG. Posee tres sistemas de introducción

de muestra: directa, por sonda; indirecta, mediante un sistema de vidrio que puede calentarse; y por cromatografía de gases (cromatógrafo de la firma Perkin-Elmer, modelo 990). Para registrar los espectros de los patrones de pureza comprobada se ha empleado la introducción indirecta; para el resto de los patrones, el aceite original y sus fracciones, el cromatógrafo de gases.

Se han utilizado fundamentalmente dos columnas, la descrita cuando hablamos de la cromatografía de gases, y otra capilar de vidrio con las siguientes características: 23 m de longitud y 0,3 mm de diámetro interior. Como soporte sólido para el asentamiento de la fase estacionaria se ha usado Chromosorb W. La fase estacionaria es Carbowax 20M. Se prepara primero una disolución de la fase en cloroformo y a continuación se suspenden en ella las partículas del soporte. El recubrimiento se ha hecho por el método dinámico, pasando después una corriente de nitrógeno para evaporar el disolvente. Se utilizó como gas portador helio. La columna se conectó directamente al espectrómetro, sólo excepcionalmente se operó con interfase tipo jet.

En el espectrómetro de masas, la ionización se ha provocado por impacto electrónico. Para un mejor aprovechamiento de los datos bibliográficos, se ha trabajado con una energía de 70 eV, que es la más corrientemente utilizada. En las condiciones de rutina el poder de resolución del instrumento estaba comprendido entre 500 y 700. Los registros se han obtenido sobre papel fotosensible.

Para obtener un registro permanente, hemos representado los espectros (tomando los picos más representativos) utilizando un miniordenador Olivetti P6060, para lo cual se ha desarrollado el correspondiente programa.

Espectroscopía infrarroja

Se ha utilizado esta técnica para la identificación de aquellos componentes aislados, por comparación de sus espectros con los que figuran en la bibliografía que se han registrado en el espectrómetro de doble haz de Perkin-Elmer, modelo 257, equipado con dos redes.

Resonancia magnética nuclear

A pesar de ser una de las técnicas más utilizadas en la elucidación de estructuras de compuestos orgánicos, su uso no se ha generalizado en el campo de los aceites esenciales. El principal motivo radica en la dificultad de aislar los diversos componentes en cantidad suficiente y con un grado de pureza aceptable. No obstante, cuando la hemos podido utilizar nos ha proporcionado una valiosa información.

Los espectros se han registrado en un espectrógrafo Varian XL-100-15 FT de 100 Mc/seg o en el Varian EM-390 de 90 Mc/seg, siempre en disolución de cloroformo deuterado, empleando tetrametilsilano como referencia interna.

R E S U L T A D O S Y D I S C U S I O N

I. IDENTIFICACION DE LOS COMPONENTES DE ACEITES ESENCIALES DE DISTINTAS ESPECIES DEL GENERO SIDERITIS

En este apartado hacemos una breve descripción de cada componente encontrado en los aceites, indicando los datos analíticos que han llevado a su identificación, en caso favorable, o que nos han aproximado a su fórmula estructural.

La composición cualitativa y cuantitativa de cada especie aparece en la Tabla III (Apéndice II). Los espectros que se mencionan en este Apartado I se incluyen en el Apéndice I.

El orden seguido en la exposición de los componentes es el mismo que presentan éstos en el cromatograma del aceite en las condiciones usuales.

1. α -Pino. - Es el primer componente que se eluye en cromatografía de gases (CG). En cromatografía de columna se recoge en la primera fracción eluída con hexano. Estos hechos ponen de manifiesto su volatilidad y su apolaridad. Su tiempo de retención (t_R) y su espectro de masas coinciden con los de un patrón. Es un componente fundamental de los aceites de la mayoría de las especies estudiadas.

2. Canfeno. - Por cromatografía en columna se recoge en la misma fracción que el α -pineno, a partir de la cual se registró su espectro de masas, que coincide con el del patrón de canfeno de que disponemos. Su identidad se confirmó con el mismo patrón por CG.

3. β -Pineno. - Presente en la misma fracción de columna que los anteriores, fracción que se utilizó para registrar su espectro de masas que coincide con el de un patrón. Su retención también coincide con la de este patrón.

4. Sabineno. - Se eluye como los anteriores con hexano. Su espectro de masas coincide con el dado para el sabineno en (4). Su retención cromatográfica, entre β -pineno y mirceno, es concordante con la que se da en (5) y (6) para el sabineno, en condiciones comparables a las nuestras.

5. Δ -3-Careno. - Se ha identificado por registro de su espectro de masas y comparación con el de un patrón. Asimismo se confirmó su presencia por comparación de su t_R con el de dicho patrón. Es un componente traza en casi todos los aceites.

6. Mirceno. - Se encuentra también en la primera fracción de columna. Su t_R y su espectro de masas son coincidentes con los de un patrón.

7. α -Felandreno. - Se ha identificado por comparación de su espectro de masas y de su t_R con los del correspondiente patrón.

8. α -Terpineno. - Se eluyó en cromatografía de columna con hexano. Fue identificado por comparación de su espectro de ma

sas con los que figuran en (4) y (7) para este compuesto.

9. Limoneno. - Se eluye en cromatografía de columna con hexano. Fue identificado por comparación de su espectro de masas con el de un patrón, y confirmada su identidad por CG.

10. β -Felandreno. - Junto con los anteriores se eluye también en la primera fracción de columna. Se identificó por comparación de su t_R y de su espectro de masas con el de un patrón.

11. 1,8-Cineol. - Aparece en la fracción de columna eluida con hexano-éter en la proporción 96:4. Se identificó por comparación de su espectro de masas y su t_R con los de un patrón.

12. 2-Pentilfurano. - Para algunas especies se ha observado en el cromatograma del aceite completo la presencia de un pico pequeño, mal resuelto, que aparece en la cola del 1,8-cineol. Por CG-MS se consiguió el registro de su espectro de masas, que salvo impurezas debidas sin duda al 1,8-cineol, coincide con los datos que se dan en (8) y (9) para el 2-pentilfurano. Asimismo, son concordantes las constantes cromatográficas que aparecen en (8), donde se opera en condiciones comparables con las nuestras.

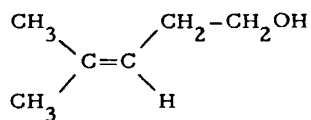
13. γ -Terpineno. - Espectro de masas y t_R coincidentes con los de un patrón.

14. p-Cimeno. - Espectro de masas y t_R coincidentes con los de un patrón.

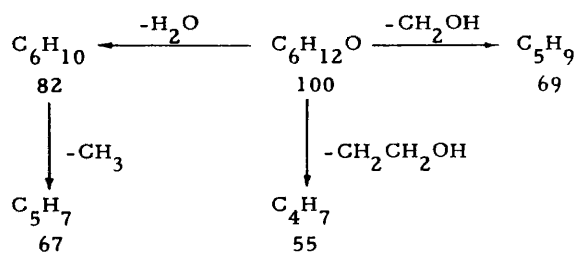
15. Terpinoleno. - Espectro de masas y t_R coincidentes con los de un patrón.

16. 1-Hexanol. - En cromatografía de columna se eluyó con éter puro. Se identificó por comparación de su espectro de masas con el del 1-hexanol (8). Se puede considerar el primer miembro de una serie de alcoholes lineales de número par de átomos de carbono, presentes en estos aceites.

17. Hexenol. - En la misma fracción que el anterior se recoge un compuesto que se eluye en CG después del 1-hexanol. Su espectro de masas (figura 3) corresponde a un hexenol, $M^+ = 100$, pico intenso a $m/e = 82$ debido a la pérdida de una molécula de agua. Comparado este espectro con el de varios isómeros del hexenol-1 de cadena lineal (9) proponemos como estructura más probable para este compuesto la del 4-metilpent-3-en-1-ol



El origen de los diferentes picos del espectro se ajustará al siguiente esquema de fragmentación:



18. Fenchona. - Este compuesto está presente en todas las especies y en muchas de ellas es un componente mayoritario. En cromatografía en columna se eluye junto al 1,8-cineol, esto es, con hexano-éter, 96:4. Su identificación se lleva a cabo por comparación de su espectro de masas y de su t_R con los de un patrón.

19. 1-Octen-3-ol. - Por CG-MS del aceite 8S3/6 se obtuvo su espectro de masas que concordaba con los datos bibliográficos recogidos en (8) y (10) para este compuesto. Asimismo, concuerdan los datos sobre retención cromatográfica que figuran en (8) en condiciones comparables a las nuestras.

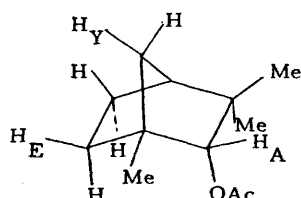
20. trans-Tuyanól. - Identificado por comparación de su espectro de masas y su t_R con los de un patrón.

21. Acetato de fenchilo. - Se recogió puro por cromatografía en columna por elución con hexano-éter, 97:3. Se registró su espectro de masas, figura 4, que no fue suficiente para su identificación por falta de información en la bibliografía. Por ello, se procedió a registrar los espectros de RMP, figura 5, y de IR, figura 6. Ambos pusieron de manifiesto que se trataba de un acetato: $\nu_{C=O}$ a 1735 cm^{-1} y $\delta = 2,08\text{ ppm}$, singulete, que integra por 3H. En el espectro de RMP destacan tres señales: singuletes a 0,80, 1,05 y 1,11 ppm, que integran por 3H cada una, y que corresponden sin duda, a 3 metilos en carbono cuaternario. Las bandas de IR a 1380 y 1460 cm^{-1} corroboran la presencia de metilos. Por último, se observa una banda a $\delta = 4,38\text{ ppm}$ que es asignable a 1H presente en el carbono que contiene el grupo acetato, es decir, $>CH-OAc$.

La ausencia de dobles enlaces nos hizo pensar en una estructura terpénica bicíclica, y dada la presencia en los aceites de

fenchona y endofenchol, así como el parecido del espectro de masas de este último y del compuesto en cuestión, sospechamos que pudiera tratarse del acetato de endofenchilo. Más tarde, pudimos confirmar nuestras sospechas por comparación de espectros de masas y t_R con los de una muestra de este compuesto.

La estructura del acetato del endofenchilo es la siguiente:



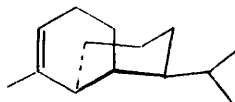
En ella se observa que los protones H_A y H_E están separados por cuatro enlaces σ en posición W, lo que justifica el doblete correspondiente a H_A , a 4,38 ppm, con un valor de $J=2\text{ Hz}$, correcto para este tipo de acoplamiento a larga distancia.

En cuanto al espectro de masas diremos que no se ve el M^+ , $m/e=196$, lo que es frecuente en acetatos monoterpénicos, pero que es congruente con los dos picos que aparecen a $m/e=153$ y $m/e=154$, correspondientes a la pérdida de $\text{CH}_3\text{-CO}^\cdot$ y $\text{CH}_2=\text{CO}$, respectivamente. Con la pérdida de ceteno se genera el endofenchol, y parece dominar esta fragmentación puesto que el resto del espectro es prácticamente igual al del endofenchol.

22. α -Copaeno. - Se eluye en columna con hexano, junto

con los demás hidrocarburos. Se registró su espectro de masas, figura 7, el cual resultó ser muy parecido al que dan en (11), (12) y (13) para α -copaeno. Pero mientras nuestro compuesto tiene como picos más importantes del espectro de masas: $m/e = 105$, 119 y 161, con las intensidades relativas que se indican en la figura 7, en (11) aparecen en el orden: 119(100), 105(98), 161(96), y en (12) y (13) en el orden: 161, 119 y 105, con intensidades, a su vez, diferentes de las anteriores.

Ante esta información tan diversa se consideró necesario aislar el compuesto para obtener nuevos datos espectrométricos que ayudaran en la elucidación de su estructura. Esto se llevó a cabo por CG preparativa. Si bien no se consiguió un grado de pureza elevado, fue suficiente para confirmar que se trataba del α -copaeno. En efecto, el espectro IR coincide con el dado para este compuesto en (13). Y el espectro de RMP presenta las siguientes bandas: banda ancha a $\delta = 5,20$ ppm, $>C=CH$; singulete a $\delta = 0,80$, $>C-CH_3$; doblete a $\delta = 0,86$, $-CH$ $\begin{smallmatrix} CH_3 \\ \diagup \\ CH_3 \end{smallmatrix}$; banda ancha a $\delta = 1,6$, $=C-CH_3$. Todas ellas concordantes con la estructura de α -copaeno

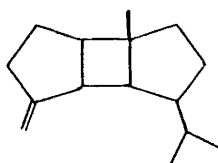


y coincidentes con los valores que se dan en (14) para este compuesto. La retención cromatográfica concuerda también con la dada en (15).

23. Alcanfor. - Aparece en una fracción de columna eluí-

da con hexano-éter en la proporción 90:10. Su espectro de masas y su retención cromatográfica coinciden con los del patrón correspondiente.

24. β -Bourboneno. - Se eluye en cromatografía de columna con hexano. Se registró su espectro de masas, figura 8, que por comparación con los datos bibliográficos (10) y (16), y dada su peculiaridad, se consideró se trataba del β -bourboneno:



No obstante, para confirmarlo se aisló por CG preparativa la cantidad mínima necesaria para registrar su espectro de RMP, figura 9. En él aparece una banda ancha a $\delta = 4,70$ ppm característica del grupo $>C=CH_2$; un doblete centrado a $\delta = 0,84$ ppm, $J = 7$ Hz, correspondiente a los metilos de un grupo isopropilo; un singulete a $\delta = 1,00$ ppm, correspondiente a un metilo cuaternario; dos bandas mal resueltas que integran por 3H, en la región $\delta = 2,28$ y $2,36$ ppm, y que corresponden a los protones del $-CH_2-$ y $-CH-$ contiguos al doble enlace $C=C$. Por último, banda ancha entre 1,2 y 1,8 ppm, de todos los protones cíclicos. Estos resultados y el orden de elución en CG (entre α -copaeno y cariofileno) coincidente con el que se da en (17) en condiciones parecidas a las nuestras, no dejan duda de que se trata del β -bourboneno.

25. Linalol. - En cromatografía de columna se eluye con hexano-éter, 85:15. Se identificó por comparación de su espectro de

masas y de su t_R con los de un patrón.

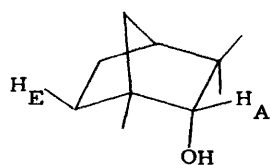
26. cis-Tuanol. - En cromatografía de columna eluyó con éter puro, en una fracción muy enriquecida en este compuesto. Fue identificado por comparación de sus espectros de masas y de RMP, y su t_R con los de un patrón.

27. Pinocarvona. - Se identificó por comparación de su espectro de masas con el que figura en (18).

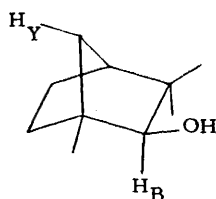
28. n-Octanol. - 28'. iso-Octanol. - Compuestos de gran polaridad, eluyeron con éter. El primero de ellos se identificó por comparación de su espectro de masas y de su t_R con los de un patrón. Inmediatamente después del n-octanol se eluye en CG un compuesto del que se registró su espectro de masas, y cuyo parecido con el de n-octanol (figuras 10 y 11) nos lleva a pensar en un isómero de este compuesto. Se ha encontrado únicamente en el aceite 8S3/6 y en concentración del orden del 0,3%.

29. endo-Fenchol. - Por cromatografía de columna fue eluído en hexano-éter, 72:28, bastante enriquecido en una fracción, a partir de la cual se pudo purificar por cromatografía de placa fina preparativa. Con esta muestra se registró su espectro de masas y de RMP. El primero coincide con los dados en (19) y (20) así como con los datos informados en (21) para el endo-fenchol. El espectro de RMP, figura 12, confirma que se trata del isómero endo por la señal a $\delta = 3,25$ ppm (H_A), frente a $\delta = 2,87$ ppm (H_B) que da el isómero exo (22). En (23) se propone como criterio de distinción entre las formas endo y exo el acoplamiento a larga distancia que existe en la forma exo entre los hidrógenos H_B y H_Y (en las posiciones 1 y 7), con una constante de acoplamiento

$J = 1,5$ Hz, que no debe existir en el caso de la forma endo.



endo-fenchol



exo-fenchol

Sin embargo, es factible un acoplamiento del mismo tipo entre los hidrógenos H_E y H_A (en las posiciones 1 y 6) en la forma endo por lo que este criterio no tiene a nuestro juicio ningún valor, hecho que se confirma en (22) donde se especifican los valores $\delta = 3,25$ ppm (H_A) y $\delta = 2,87$ ppm (H_B), y las constantes de acoplamiento $J_{AE} = 1,35$ Hz y $J_{BY} = 1,85$ Hz.

30. - Su espectro de masas, figura 13, se registró a partir de una fracción compleja, eluída con hexano. Su apolaridad y el ión molecular observable en el espectro de masas, $M^+ = 204$, revelan se trata de un hidrocarburo sesquiterpénico. El espectro de masas presenta un gran parecido con el del trans- β -farneseno del que se informa en (24), y algo menos con el del mismo compuesto de (12). No obstante, existen diferencias no justificadas. Tampoco los datos bibliográficos sobre retención en CG del trans- β -farneseno (17) parecen coincidir con los de nuestro compuesto. Sólomente se ha encontrado en el aceite de S. tragoriganum y en una concentración tan baja que hace inviable su aislamiento.

31. Acetato de bornilo. - No es un compuesto presente en todas especies, al menos en proporciones superiores al 0,1%. Su identificación se realizó por comparación de su espectro de masas y su t_R con los de un patrón.

32. 4-Terpineol. - Se eluye en cromatografía de columna con hexano-éter, 70:30. Se identificó por comparación de su espectro de masas y su t_R con los de un patrón.

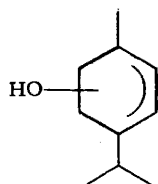
33. Cariofileno. - Apareció en la fracción de columna eluída con hexano. Fue identificado por comparación de su espectro de masas con el de un patrón, y confirmada su presencia por CG.

34. allo-Aromadendreno. - Compuesto apolar eluído con hexano. Identificado por comparación de su espectro de masas y su t_R con los de un patrón.

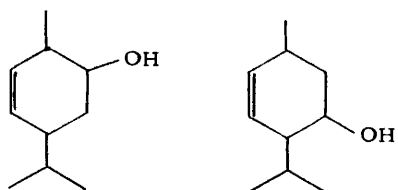
35. - Fue eluído en cromatografía de columna con hexano, lo que puso de manifiesto su carácter apolar. Su espectro de masas, figura 14, presenta un aspecto muy parecido al del compuesto anterior, con la diferencia fundamental de que el pico a $m/e = 161$ es menos intenso, dejando de ser el pico base, como lo era en el allo-aromadendreno. Esta similitud en el espectro de masas así como en la retención cromatográfica, nos lleva a considerar que probablemente se trate de un estereoisómero del allo-aromadendreno.

36. - Aparece en una fracción eluída con éter. Su retención cromatográfica es análoga a la del compuesto anterior. Su espectro de masas, figura 15, indica una masa molecular de 154. En

él pueden observarse las pérdidas de CH_3 y H_2O , picos a $m/e=139$ y 136, respectivamente. Del resto del espectro destacan los picos a $m/e=43$ y 93, que son los de mayor intensidad. El pico a $m/e=93$ es siempre muy intenso en p-mentenoles con el doble enlace y el OH en el ciclo. (La posición del OH en otros carbonos daría lugar a fragmentos que aquí no aparecen). Por ello, partimos de una estructura del tipo de la figura:

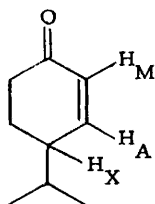


De los diversos compuestos que corresponden a esta estructura, descartando aquéllos cuyos espectros de masas conocemos y aquellos otros cuya estructura parece incompatible con nuestros datos de masas, podía pensarse en alguno de los siguientes compuestos:



37. trans-Pinocarveol.- Componente traza identificado por comparación de su espectro de masas con el que aparece en la bibliografía (25).

38. Criptona.- Fue aislado por CG preparativa del aceite de la S. foetens, única especie en que no está en cantidades traza. Se registró su espectro de masas, que por comparación con los representados en (26) y (27) se supo correspondía a la criptona. También el espectro de RMP de la criptona dado en (27) coincide con el nuestro, con la salvedad de que este último es de mayor resolución pudiendo observarse acoplamientos a larga distancia, como se observa en las figuras I y II. Los dos protones olefínicos constituyen la porción AM de un sistema AMX, con señales centradas a $\delta = 6,90$ ppm (H_A) y $\delta = 6,12$ ppm (H_M), y con una constante de acoplamiento, $J_{AM} = 10$ Hz, propia de protones olefínicos cis en anillo de ciclohexano. Por otra parte, H_M presenta acoplamiento alílico con H_X ($J_{MX} = 3$ Hz) dando lugar al cuadruplete observado para este protón. Asimismo, H_A se acopla con H_X ($J = 3$ Hz) originando un cuadruplete, que a su vez se desdobra, probablemente, por acoplamiento a través de 4 enlaces σ con el hidrógeno ecuatorial de C_5 .



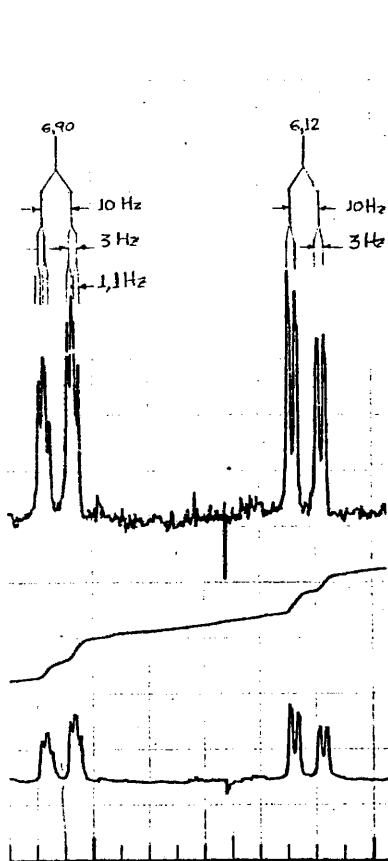


Figura I

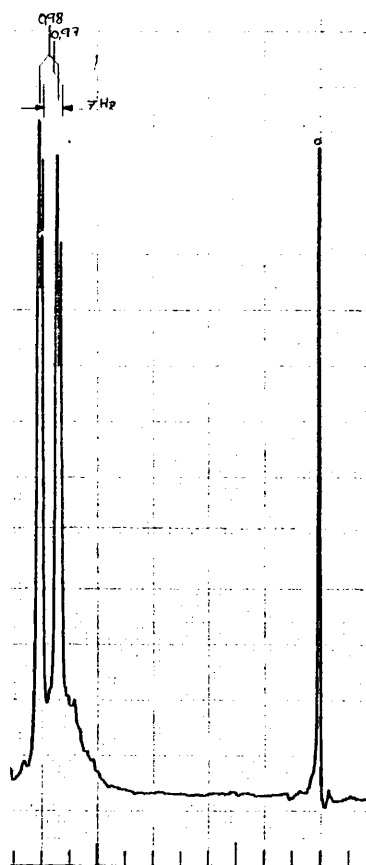
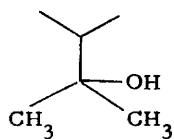


Figura II

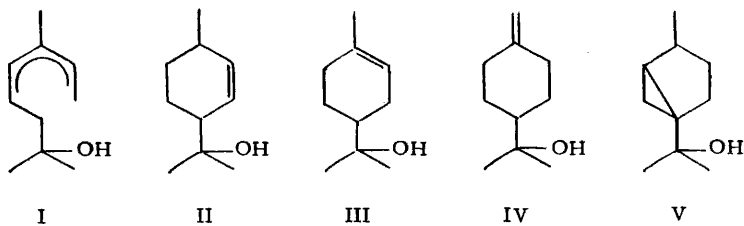
En la figura II aparecen dos dobletes centrados a $\delta = 0,97$ y $0,98$ ppm, $J = 7$ Hz, correspondientes a los metilos del grupo isopropilo por acoplamiento con H_7 .

39.- Se encontró en una fracción de columna eluída con éter, a partir de la cual se registró su espectro de masas (figura 16). Su carácter polar y los últimos picos del espectro ($M^+ - H_2O = 136$,

$M^+ - CH_3 = 139$) revelan que es un alcohol monoterpénico de fórmula empírica $C_{10}H_{18}O$. La característica fundamental del espectro es el pico base a $m/e = 59$ que corresponde al ión $C_3H_7O^+$, lo que pone de manifiesto la presencia en el compuesto del grupo siguiente:



Este espectro de masas presenta los mismos picos que el del α -terpineol, aunque las intensidades varían notablemente pensamos que el compuesto debe tener una estructura muy relacionada con la del α -terpineol. Esta podría ser abierta con dos dobles enlaces, figura I; monocíclica, con un doble enlace; figuras II, III y IV; o bicíclica, figura V.



Los espectros de masas de los diferentes compuestos con estructura I se dan en la bibliografía. Todos ellos presentan el pico 59 como pico base o uno de los más intensos, pero difieren mucho del espectro del compuesto problema.

De las estructuras monocíclicas consideradas la III es la del α -terpineol. La II pensamos que debe dar con facilidad pérdida de metilo por estar en posición alílica, y por tanto, la intensidad de los picos a $m/e = 139$ y 121 debería ser mayor. En (28) se discute la posible estructura de un compuesto con un espectro parecido al nuestro al que se le atribuye la estructura IV.

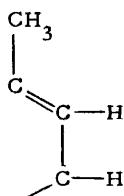
También para la estructura bicíclica cabe esperar un espectro de masas de este tipo. Por ello, damos para el componente problema como más probables las estructuras IV o V.

40.- Fue aislado por CG preparativa y se registró su espectro de masas y de RMP, figuras 17 y 18.

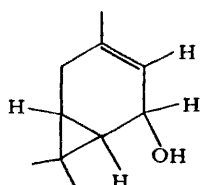
El espectro de masas presenta como pico base el ión a $m/e = 91$, siguiendo en intensidad los iones a $m/e = 41, 119, 43$ y 92 . El pico a mayor masa que aparece es el de $m/e = 152$, que se toma como ión molecular. El pico a $m/e = 134$ ($M^+ - 18$) sugiere se trata de un alcohol. Esta hipótesis queda confirmada por la banda a $\delta = 1,55$ ppm que desaparece al registrar el espectro de RMP agitando con agua deuterada. Todos estos datos están de acuerdo con la estructura de un alcohol monoterpénico, de fórmula empírica $C_{10}H_{16}O$, al que corresponden tres insaturaciones.

En el espectro de RMP, además de la banda comentada, destacan las siguientes: Un triplete centrado a $0,75$ ppm, $J = 10$ Hz,

que debe corresponder a uno de los hidrógenos del anillo tricíclico; dos singuletes a 0,90 y 1,33 ppm, que probablemente corresponden a dos metilos en carbono cuaternario, o sea $\begin{smallmatrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix} > \text{C} <$; un triplete a $\delta = 1,72$ ppm, $J \simeq 1,2$ Hz, que por el desplazamiento corresponde a un metilo unido a carbono con doble enlace, $\text{CH}_3-\text{C}=\text{}$, y cuyo desdoblamiento por acoplamiento a larga distancia, será compatible con la siguiente estructura parcial:



Una banda ancha a $\delta = 4,28$ ppm, debida a un protón alílico que está en un carbono con grupo OH, es decir, $=\text{C}-\text{CH}-\text{OH}$. Un multiplete con estructura fina, a $\delta = 5,37$ ppm que corresponde a un protón olefínico. Toda esta información es bastante compatible con la estructura del 3(4)-caren-5-ol:



41. Limonen-4-ol. - Aparece en una fracción de columna eluída con hexano-éter, 85:15. Se registró su espectro de masas que sirvió para identificarlo como limonen-4-ol por comparación con los datos que da la bibliografía (29) para este compuesto. No se ha podido identificar con exactitud en el cromatograma.

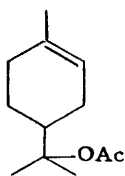
42. Piperitona. - Se encontró en una fracción obtenida por CG preparativa, a partir de la cual se registró su espectro de masas. Dicho espectro coincide con el que se publica en (29) y (30) para la piperitona, así como con los datos dados en (18) sobre el mismo compuesto.

43. Compuesto apolar que eluyó en cromatografía con hexano. Su espectro de masas, figura 19, revela que es un hidrocarburo sesquiterpénico, $M^+ = 204$. Toda la parte baja del espectro $m/e < 150$, es prácticamente igual a la del γ -muuroleno, (13) y (31), sin embargo, los picos a $m/e = 161$ y $m/e = 204$ son para nuestro compuesto bastante más bajos que los del γ -muuroleno, por ello, y a pesar de que los t_R de ambos compuestos son del mismo orden, pensamos debe tratarse de otro compuesto, estereoisómero del γ -muuroleno.

44. α -Terpineol. - Eluyó en cromatografía de columna con hexano-éter, 50:50. Se identificó por comparación de su espectro de masas y t_R con los de nuestro patrón. En el cromatograma del aceite completo, los picos correspondientes al α -terpineol y al componente número 43 coinciden completamente. Por ello, en el análisis cuantitativo, Tabla III, se da la concentración conjunta si bien por espectrometría de masas se ha observado un claro predominio del α -terpineol.

45. Isoborneol. - Se identificó por comparación de su espectro de masas y t_R con los de nuestro patrón.

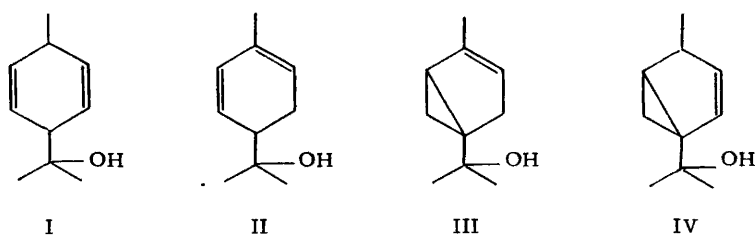
46. Acetato de α -terpenilo. - Se aisló por CG preparativa y se registraron sus espectros de IR, RMP y de masas. El espectro IR coincide con el dado en (32) para el acetato de α -terpenilo. El espectro de masas es comparable al de nuestro patrón y al dado en (33) para este mismo compuesto. Asimismo, el espectro de RMP presenta las siguientes señales, compatibles con la estructura de acetato de α -terpenilo.



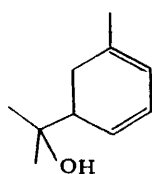
singuletes a $\delta = 1,42$ y $\delta = 1,44$ ppm correspondientes a los hidrógenos de los dos metilos del grupo $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array} > \text{C}-\text{O}-\text{Ac}$; banda ancha centrada a $\delta = 1,64$ ppm, típica de $\text{CH}_3-\text{C}=\text{}$; singulete a $\delta = 1,97$ ppm correspondiente a los hidrógenos del grupo $-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_3$; por último, banda ancha centrada a $\delta = 5,37$ ppm debida al protón olefínico.

46'. - Se encuentra en el aceite de S. arborescens en una concentración del 3%. De aquí se obtuvo su espectro de masas (figura 20). Los picos a $m/e = 134$ y 137 indican $M^+ = 152$ ($M^+ - \text{CH}_3 = 137$ y $M^+ - \text{H}_2\text{O} = 134$) y, consecuentemente, fórmula molecular $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$. La presencia del pico a $m/e = 134$ y la elevada retención del compuesto, indican función alcohol. Asimismo, el pico base a $m/e = 59$, propio del grupo: $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array} > \text{C}-\text{OH}$ corrobora esta idea.

Teniendo en cuenta que a la fórmula molecular $C_{10}H_{16}O$ corresponden tres insaturaciones, se proponen como estructuras probables para este compuesto las siguientes:



(Obsérvese que la ruptura por el enlace C4-C8 debe estar favorecida por la posición de los dobles enlaces C=C, ruptura alílica, por lo que no se consideran otras posibles estructuras isómeras de posición de la I y II). Las estructuras III y IV no son estructuras terpénicas frecuentes por lo que no se considera que puedan corresponder a nuestro compuesto, además en ellas no está facilitada la formación del ión tropilio, $C_7H_7^+$, que origina el pico a $m/e = 91$ bastante intenso. Por último, la información que en (34) se da sobre datos de masas para el compuesto sintético de la figura siguiente:



(para el que cabe esperar el mismo tipo de fragmentación que para los compuestos I y II), pico base a $m/e = 59$, 94 (86%), 79 (64%), etc., nos confirma que el espectro de la figura 20, debe corresponder al compuesto I ó II.

46'. - En este mismo aceite, aunque en una concentración muy inferior, del orden de 0,2%, se encontró un compuesto cuyo espectro de masas es el de la figura 21. Como puede verse es muy similar al del compuesto descrito anteriormente, por lo que caben razonamientos análogos en relación a su estructura. Su retención cromatográfica es mayor que la del primero, eluye muy próximo al aromadendreno.

47. Germacreno D. - Se registró su espectro de masas (figura 22) directamente del aceite completo, que concordaba bien con los datos dados en (10) sobre el germacreno D. Sin embargo, considerando poco definitivos estos datos, dado el gran número de isómeros con espectros de masas muy parecidos, se procedió a aislarlo por CG preparativa a fin de recabar mayor información. Los resultados fueron negativos, pues el compuesto se transformaba en otros varios: γ -cadineno, α -muuroleno, etc., que llegaban a alcanzar concentraciones elevadas, de modo que el espectro de RMP así registrado no es muy relevante. Consultada la bibliografía a este respecto hemos podido ver varios trabajos, (35) y (36), en que se menciona la fácil transformación en otros isómeros del germacreno D, bien por acción del calor, de la luz o sobre gel de sílice. Esto nos confirmaría que nuestro compuesto es el germacreno D.

47'. Nerol. - Identificado por comparación de su espectro de masas y su t_R con los de un patrón.

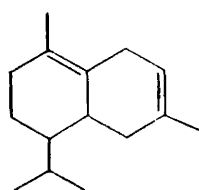
48. Borneol. - Identificado por comparación de su espectro de masas y su t_R con los de un patrón.

49. α -Muuroleno. - Se eluye en cromatografía de columna con hexano. Se identificó por comparación de su espectro de masas con los dados en (10), (13) y (37). El orden de elución en CG es también correcto de acuerdo con (17).

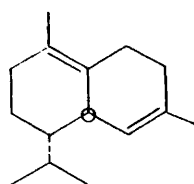
50. γ -Cadineno. - Apareció en la misma fracción de columna que el anterior. Su espectro de masas (figura 23), presenta ligeras diferencias con los que se dan en la bibliografía (13) y (38), destacando la baja intensidad del ión molecular. El t_R en CG concuerda con los datos de (17) para el γ -cadineno.

51. Carvona. - Se eluyó en columna con hexano-éter, 90:10, junto con el alcanfor. Se identificó por comparación de su espectro de masas y su t_R con los de un patrón.

52. δ -Cadineno. - En cromatografía de columna eluyó con hexano, junto con otros hidrocarburos. Se aisló por CG preparativa, registrándose su espectro de masas (figura 24) y de RMP (figura 25). En la bibliografía se encuentran dos espectros de masas bien diferentes asignados al δ -cadineno. No obstante, parece ser que en (39) y (40) (espectros iguales), se llama δ -cadineno al compuesto I, sin especificar orientación estérica en los carbonos mientras que en (41) se refiere al compuesto II. Esta última asignación es más frecuente en publicaciones recientes y es la que seguiremos nosotros. Pues bien, el espectro de masas de nuestro compuesto es muy similar al que se representa en (41) para el δ -cadineno (II), salvo en que el pico a $m/e=134$ es más bajo, además con una variación en intensidad según la zona del pico cromatográfico a la que se re



I



II

gistra el espectro de masas. Este hecho se explica admitiendo que haya junto a δ -cadineno un isómero no separable cromatográficamente muy peculiar, en el sentido de que su espectro de masas tiene que ser muy parecido al del δ -cadineno salvo en el pico a $m/e = 134$, que debe ser menor o no aparecer. El espectro de RMP es coherente con la estructura del δ -cadineno (II) y coincide con los datos de (14) para este compuesto, presentando las siguientes bandas características: dos dobletes centrados a $\delta = 0,79$ y $0,96$ ppm correspondientes a los metilos del grupo isopropilo; banda ancha a $\delta = 1,65$ ppm debida a los hidrógenos del grupo $\text{CH}_3\text{-C=}$; y banda ancha a $\delta = 5,45$ ppm correspondiente al protón olefínico.

53. α -Curcumeno. - Se obtuvo puro en una fracción de cromatografía de columna eluída con hexano-éter, 98:2. Con esta fracción se registró su espectro de masas, que coincide con los representados para el α -curcumeno en (14), (42) y (43); su espectro IR, coincide con el dado para el mismo compuesto en (44); y por último, su espectro RMP concuerda bien con los datos que se dan en (14) y (42) para dicho compuesto.

53'. Geraniol. - Identificado por comparación de su espectro de masas y su t_R con los de un patrón. Al igual que el nerol, sólo se ha encontrado en la S. ilicifolia.

54. Aldehído cumínico. - Se obtuvo puro por CG preparativa. Se registraron sus espectros de masas y de RMP que coincidieron con los de un patrón.

55. 1-Decanol. - Se eluyó en cromatografía de columna con éter puro. Se identificó por comparación de su espectro de masas con el de un patrón. Su carácter de componente traza hace que sólo se haya encontrado en aquellos aceites estudiados con mayor profundidad, pero es presumible que esté presente en otras especies. Esto mismo puede decirse de otros miembros de la serie de alcoholes lineales identificados.

56. - En CG se eluyó con hexano-éter, 85:15. Se aisló por CG preparativa y se registraron sus espectros de masas, IR y RMP. No obstante, el control de pureza llevado a cabo por CG pone de manifiesto que el producto se descompone con facilidad durante el proceso de separación, por lo que no se tiene garantía de la pureza de los espectros IR y RMP. El mismo problema se presenta al intentar aislar el compuesto por cromatografía de columna.

Por su espectro de masas (figura 26), $M^+ = 220$, puede decirse que es un compuesto sesquiterpénico oxigenado de fórmula empírica $C_{15}H_{24}O$, que presenta cuatro insaturaciones. De la ausencia en el espectro IR de bandas ν_{OH} y ν_{CO} deducimos que el compuesto debe poseer función éter.

Por hidrogenación, realizada en presencia de hidrógeno con óxido de platino como catalizador, conduce a otro compuesto con $M^+ = 224$, lo que indica la presencia de dos dobles enlaces. Las otras dos insaturaciones revelan la presencia de dos ciclos.

57. trans-Carvebl. - Identificado por comparación de su espectro de masas con el que figura en (21) para este compuesto. Es un componente traza presente en el aceite de la S. foetens.

58. Calameneno. - Identificado por comparación de su espectro de masas con el representado en (13) para este compuesto.

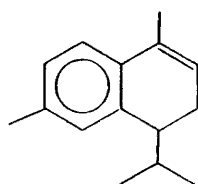
59. p-Cimen-8-ol. - Identificado por comparación de su espectro de masas con el que figura en (45) para este compuesto.

59'. trans-2-p-Menten-7-ol. - Identificado a partir de su espectro de masas, registrado del aceite de S. arborescens, por comparación con el que figura en (46).

60. Calameneno deshidrogenado. - El espectro de masas de este compuesto (figura 27) presenta un gran parecido con el del calameneno para los picos a valores bajos de m/e , mientras que los picos a m/e altos están desplazados dos unidades de masa más abajo. El pico base es el 157 (frente a 159 en el calameneno), mientras que el ión molecular se encuentra a $m/e = 200$ (frente a 202 en el calameneno).

A partir de estos datos espectrales podemos postular para este compuesto una estructura similar a la del calameneno pero con dos hidrógenos menos. Existen seis isómeros de posición

posibles, de entre los cuales nos parece más acorde con nuestro espectro el siguiente:



que por otra parte, es compatible con un origen biogenético o degradativo a partir del calameneno.

60' y 61'.- Aparecen estos dos compuestos en una fracción de columna eluída con éter, junto a los componentes 66 y 67 como mayoritarios.

Su naturaleza polar y la similitud de sus espectros de masas (figuras 28 y 29) con los del 1-dodecanol, nos lleva a identificarlos como isómeros de este último. El espectro de masas del componente 61' presenta muy escasas diferencias con el del 1-dodecanol. Como en éste los picos a mayor masa del espectro son: $m/e = 168$, que corresponde a la pérdida de agua ($M^+ - 18$) y $m/e = 140$, que corresponde a la pérdida de agua y etileno ($M^+ - 18 - 28$).

En el espectro del componente 60' aparecen los mismos picos, sólo que con algunas diferencias en las intensidades relativas. No obstante, ambos presentan el aspecto general de compuestos de cadena lineal, por lo que parece más probable que se trate

de isómeros de posición del OH del 1-dodecanol. El carácter de alcohol secundario es coherente con la menor retención cromatográfica que presentan en relación con el 1-dodecanol.

Su presencia sólo se ha observado en el aceite de S. leu cantha bourgeana (759), y en concentración inferior al 0,1%.

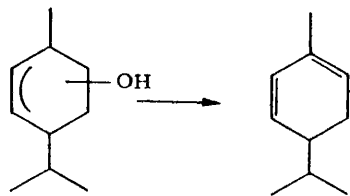
61 y 62.- Existen en los aceites una serie de compuestos sesquiterpénicos, oxigenados todos ellos, cuya identificación no se ha podido llevar a cabo. Por un lado, la información que da la bibliografía sobre constantes cromatográficas y sobre datos de masas es muy escasa; por otro, se trata de componentes que rara vez están en una concentración superior al 2%, por lo que difícilmente pueden aislarse para obtener mayor información de la que puede deducirse de su espectro de masas. Entre ellos, figuran los compuestos 61 y 62, que eluyen en CG muy próximos.

El espectro del componente 61 es el de la figura 30. En él puede verse el ión molecular, $M^+ = 222$, compatible con la fórmula elemental $C_{15}H_{26}O$. El ión a $m/e = 204$, pérdida de 18 unidades de masa, es compatible con función alcohol, aunque en principio no debe descartarse la posibilidad de que sea un óxido, sobre todo teniendo en cuenta la pequeña intensidad de dicho pico. El aspecto general del espectro indica que hay una fragmentación muy favorecida, la que conduce al ión $m/e = 81$, que debe corresponder al fragmento $C_6H_9^+$.

El espectro del componente 62 es el de la figura 31. Se trata de un compuesto de masa molecular 220, con fórmula empírica $C_{15}H_{24}O$. La ausencia de pico a $M^+ - 18$, nos lleva a considerar como más probables las funciones óxido y cetona que la de alcohol.

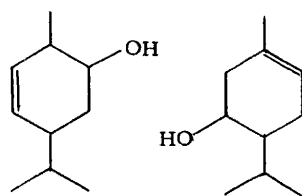
Por otra parte, la intensidad bastante elevada del ión molecular y la presencia de los picos pares a $m/e = 150$ y 122 , son más coherentes con un compuesto cetónico.

62'. - Su espectro de masas, registrado a partir del aceite de S. arborescens, es el de la figura 32. Su elevada retención cromatográfica es propia del alcohol, por lo que se deduce que el ión molecular debe ser 154, correspondiendo el pico a $m/e = 136$ al ión que se origina por deshidratación ($M^+ - H_2O = 136$). Destaca la simplicidad del espectro con pico base a $m/e = 93$, que corresponde a la pérdida del grupo C_3H_7 , que debe estar especialmente favorecida. Dada la similitud de este espectro con la del α -felandreno opinamos que puede tratarse de un compuesto con la estructura básica de éste, en el que domine la deshidratación como primera fragmentación.



α -felandreno

Revisados los espectros de masas de compuestos posibles, nos que dan como estructuras más probables las siguientes:

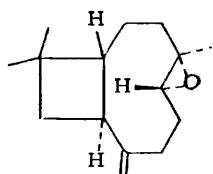


63. β -Ionona. - Se identificó por comparación de su espectro de masas y de su t_R con los de un patrón.

64. - Su espectro de masas (figura 33), indica se trata de un compuesto de masa molecular 220, y por tanto, fórmula empírica $C_{15}H_{24}O$. En cuanto a la función podríamos hacer las mismas consideraciones que para el componente 62. Los picos más intensos coinciden con los que se dan en (47) para el cariofilenol, sin embargo, el t_R de este compuesto debiera ser mayor.

65. Oxido de cariofileno. - Se obtuvo puro en una fracción de columna que eluyó con hexano-éter, 85:15. Su espectro de masas (figura 34), coincide con los datos dados en (42) para el óxido de cariofileno. La información recogida en (42) sobre el espectro de RMP de este compuesto es también coherente con el espectro registrado por nosotros (figura 35), en el que destacan las siguientes bandas: dos singuletes a $\delta = 0,98$ ppm y 1,00 ppm debidas a los hidrógenos de \underline{CH}_3 (14) y \underline{CH}_3 (15); un singulete a $\delta = 1,20$ ppm correspondiente a los hidrógenos de \underline{CH}_3 (13); doble doblete a $\delta = 2,87$ ppm, con $J=10$ y 4Hz, debida al hidrógeno de HC(9); dos bandas anchas a 4,86 y 4,94 ppm debidas a los hidrógenos de $>C=\underline{CH}_2$

(12); por último, un conjunto de bandas que se extienden entre $\delta = 1,2$ y $2,7$ ppm correspondientes a los hidrógenos restantes.



65'.- Tiene un t_R idéntico al del óxido de cariofileno. Se ha encontrado únicamente en el aceite de S. serrata a partir del cual se obtuvo su espectro de masas (figura 36). Registrando espectros a diferentes alturas del pico cromatográfico pudo observarse que éste era una mezcla de ambos componentes, si bien el óxido de cariofileno está en muy pequeña proporción. (El porcentaje dado en la Tabla III corresponde a los dos componentes).

Como se deduce de su espectro de masas, $M^+ = 220$, se trata de un componente sesquiterpénico de fórmula molecular $C_{15}H_{24}O$. Los picos más intensos coinciden con los de (47) para un compuesto que llaman epóxido de cariofileno. Asimismo, concuerdan los datos de retención cromatográfica con los nuestros. Pensamos por ello, que este compuesto es un estereoisómero del óxido de cariofileno (componente 65).

65''.- Este componente se ha encontrado exclusivamente en el aceite de S. ilicifolia. Su retención cromatográfica es tam-

bién muy próxima a la del óxido de cariofileno. Su espectro de masas (figura 37) corresponde a un alcohol sesquiterpénico de fórmula molecular $C_{15}H_{26}O$.

66. 1-Dodecanol. - En cromatografía de columna aparece en una fracción eluída con éter puro. Fue identificado por comparación de su espectro de masas y su t_R con los de un patrón.

66'. Damascenona. - 66''. - Con una retención del mismo orden que la del 1-dodecanol se caracterizaron dos nuevos componentes en el aceite de S. hyssopifolia. Uno de ellos se identificó como damascenona por comparación de su espectro de masas (figura 38) con los datos recogidos en (47) y (10) para este compuesto. En el espectro de masas del otro componente (figura 39) el pico que aparece a mayor masa, $m/e=192$, se toma como ión molecular; el pico a $m/e=174$ (M^+-H_2O) revela la presencia de oxígeno en la molécula. Con estos datos se puede decir que la fórmula empírica del compuesto 66'' es $C_{13}H_{20}O$, y que muy probablemente, posee función alcohol.

67. - Compuesto de polaridad análoga al 1-dodecanol, pues eluye en la misma fracción de columna.

De su espectro de masas (figura 40) se deduce que se trata de un dodecanol insaturado. El ión molecular ($M^+=184$) no aparece, lo que es frecuente en alcoholes de cadena larga. El pico a $m/e=166$ corresponde a la pérdida de una molécula de agua (M^+-18). El resto del espectro corresponde a la fragmentación posterior de los productos intermedios insaturados o alicíclicos originados en la deshidratación. Puede destacarse con respecto al dodecanol el corrimiento a dos unidades de masas menos de los picos más inten-

808.

Al objeto de determinar de que isómero se trataba, se aisló por CG preparativa, aunque no se consiguió un elevado grado de pureza, pues aparecía como impureza un alcohol sesquiterpénico cuyo espectro de masas se presenta en la figura 42.

Registrado el espectro RMP del compuesto aislado (figura 41) se observan las siguientes señales: multiplete centrado a $\delta = 0,95$ ppm que debe corresponder a grupos metilo; banda intensa a $\delta = 1,27$ ppm característica de varios $-\text{CH}_2-$ en cadena; triplete a $\delta = 3,65$ ppm, que integra por 2H, y corresponde al $-\text{CH}_2-$ que lleva el OH, contiguo por tanto a otro $-\text{CH}_2-$, lo que confirma que es un alcohol primario; a $\delta = 5,4$ ppm un multiplete debido a dos hidrógenos olefínicos (este tipo de banda es característica de doble enlace en cadena lineal); por último, las bandas entre $\delta = 1,5$ y 2,1 ppm corresponden a los hidrógenos de los grupos metileno contiguos a doble enlace, al hidrógeno del grupo OH , y probablemente, a los hidrógenos del grupo metileno contiguo al $-\text{CH}_2\text{OH}$. También aparece un doblete centrado a $\delta = 4,8$ ppm, típico de hidrógenos de metileno terminal que debe pertenecer a la impureza.

67'. - En la misma fracción de columna que el compuesto anterior aparece, a una concentración muy baja, otro compuesto isómero de aquél como se deduce de su espectro de masas (figura 43). Su t_R es algo mayor.

68. - 69. - y 70. - Son tres compuestos sesquiterpénicos oxigenados de los que se ha registrado únicamente sus espectros de masas.

En el espectro del componente 68 (figura 44) se observa

el ión molecular a $m/e=220$, lo que corresponde a una fórmula empírica $C_{15}H_{24}O$. La fragmentación es muy común en este tipo de compuestos.

Los componentes 69 y 70 son ambos alcoholes sesquiterpénicos de fórmula empírica $C_{15}H_{26}O$, como se deduce de sus espectros de masas (figuras 45 y 46 respectivamente). El componente 70 eluye prácticamente en la cola del pico correspondiente al componente 69, por lo que es muy probable que su espectro sea mezcla de los dos. Asimismo, puede ocurrir que este compuesto esté presente en otros aceites en concentraciones bajas y no se ha ya detectado.

71. Nerolidol. - Eluye en una fracción de columna con hexano-éter, 85:15. Se identificó por comparación de su espectro de masas y su t_R con los de un patrón.

72. Cadinenol. - Eluye en la misma fracción que el anterior. Se identificó por comparación de su espectro de masas con el que figura en (48).

73. - Eluye también con los anteriores compuestos, lo que pone de manifiesto su carácter polar. Su espectro de masas es el de la figura 47. Registrado a mayor intensidad puede observarse el ión molecular a $m/e=222$. Es por tanto, un compuesto sesquiterpénico de fórmula molecular $C_{15}H_{26}O$, con función alcohol, como se deduce de la polaridad de la fracción en que eluye, así como de la intensidad del pico a $m/e=204$, correspondiente a la pérdida de una molécula de agua.

74. - Se aisló por CG preparativa, a partir del aceite de

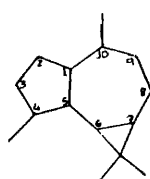
S. foetens (7S8/1), donde está en mayor concentración. Se registra sus espectros de masas y de RMP (figuras 48 y 49 respectivamente).

En el espectro de masas se observa el ión molecular a $m/e = 222$. Asimismo, el ión a $m/e = 204$ ($M^+ - H_2O$) cuya intensidad es propia de alcohol. Por tanto, el compuesto debe ser un alcohol sesquiterpénico de fórmula empírica $C_{15}H_{26}O$.

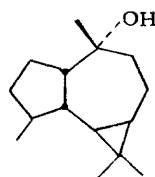
En el espectro de RMP destacan las siguientes bandas: multiplete entre $\delta = 0,06$ y $0,6$ ppm, que integra por 2H, y que indica la presencia de anillo de ciclopropano; doblete centrado a $\delta = 0,95$ ppm, $J = 6$ Hz, que integra por 3H, y corresponde a un metilo en carbono terciario; dos singuletes, a $\delta = 1,00$ y $1,03$ ppm, correspondientes a dos metilos en carbono cuaternario; singulete a $\delta = 1,15$ ppm, que integra por 3H, y cuyo desplazamiento es coherente con el de un metilo en el carbono que lleva el OH: $\text{CH}_3 - \overset{|}{\underset{|}{\text{C}}} - \text{OH}$; conjunto de bandas entre $\delta = 1,20$ y $1,90$ ppm, correspondientes a grupos $-\text{CH}_2-$ y $-\text{CH}-$, y al protón del OH.

A la fórmula molecular $C_{15}H_{26}O$ corresponden tres insaturaciones. Dada la ausencia de hidrógenos olefínicos y señales de hidrógenos en carbonos contiguos a doble enlace, el compuesto debe ser tricíclico. Analizando los esqueletos más frecuentes de sesquiterpenos tricíclicos con las exigencias impuestas por el espectro de RMP, concluimos que este compuesto debe tener la estructura del aromadendrano (figura 1). En principio, son varios los alcoholes que pueden tener esta estructura, pero la situación especificada para el OH reduce las posibilidades a dos isómeros, donde el OH estaría en las posiciones 4 ó 10. Cada una de estas dos estructuras representa a su vez varios estereoisómeros, de los cuales no

se han encontrado datos espectroscópicos, salvo para el ledol, cuyos datos de masas (49) y (50) no concuerdan con los de nuestro compuesto, por lo que este isómero queda descartado.



I



ledol

75. Cuminol. - Está presente únicamente en el aceite de S. foetens, lo mismo que el aldehído cumínico. Se identificó por comparación de su espectro de masas con el representado en la bibliografía (22).

76. - Se aisló por CG preparativa y se registraron sus espectros IR, masas y RMP.

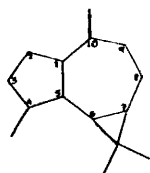
En el espectro IR destacan como bandas más significativas las siguientes: banda ν_{OH} 3380 cm^{-1} y banda $\nu_{C=C}$ 1635 cm^{-1} .

En el espectro de masas (figura 50) se observa el M^+ a 220, lo que indica fórmula molecular $C_{15}H_{24}O$. Los demás picos, ($M^+ - CH_3$, $M^+ - H_2O$, $M^+ - C_3H_7$, etc.) son muy comunes en sesquiterpenos oxigenados.

El espectro de RMP (figura 51) presenta las siguientes

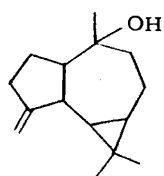
bandas: multiplete centrado a $\delta = 0,44$ ppm, assignable a hidrógenos de ciclopropano; dos singuletes a $\delta = 1,04$ ppm que integra por 6H, asignables a dos metilos en carbono cuaternario: $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{array}$; un singulete a $\delta = 1,26$ ppm que integra por 3H, y debe corresponder a un metilo unido a carbono cuaternario con el grupo OH, es decir, $\text{CH}_3-\text{C}-\text{OH}$; una banda ancha a $\delta = 4,66$ ppm debida a los hidrógenos del grupo $>\text{C}=\text{CH}_2$. Los demás hidrógenos, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}-$ y OH , aparecen en un conjunto de bandas extendidas hasta $\delta = 2,5$ ppm.

Con estas características y fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$, corresponden al compuesto cuatro insaturaciones, una de ellas asignables al grupo $>\text{C}=\text{CH}_2$. Dado que no existen más hidrógenos olefínicos en la molécula, ni parece probable la presencia de dobles enlaces tetrasustituídos, el resto de las insaturaciones corresponden a tres ciclos, uno de ellos de tres miembros. Revisados los esqueletos de sesquiterpenos deducimos que este compuesto debe tener la estructura de aromadendrano (ya que estructuras del tipo del maaliano y aristolano, no podrían explicar todos los datos espectroscópicos de que disponemos):

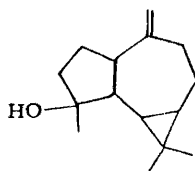


De acuerdo con estas consideraciones caben dos posibilidades:

- I. Con el metileno terminal en el C_4 y el OH en C_{10} .
- II. Con el metileno en C_{10} y el OH en C_4 .



I



II

A su vez, cada una de estas estructuras presenta varios isómeros ópticos, dada la presencia de carbonos asimétricos.

77.- Su espectro de masas (figura 52) es muy parecido al del compuesto anterior, por lo que probablemente se trate de un isómero óptico del componente 76.

78.- Se encuentra únicamente en el aceite de *S. ilicifolia*. De su espectro de masas (figura 53) deducimos se trata de un compuesto sesquiterpénico oxigenado de fórmula molecular $C_{15}H_{24}O$, sin duda alcohol, dada su elevada polaridad. El pico base del espectro, $m/e = 59$, indica la presencia del grupo

$$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{C}-\text{OH} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{array}$$

79. Eugenol.- Identificado por comparación de su espectro de masas y t_R con el de un patrón.

80.- Su espectro de masas es el de la figura 54. Dada la zona del cromatograma en que eluye no cabe duda acerca de su carácter polar, por lo que consideramos es un alcohol sesquiterpénico con fórmula empírica $C_{15}H_{24}O$.

80'. T-cadinol. - Aparece en una fracción de columna eluída con hexano-éter, 75:25. Su espectro de masas (figura 55) presenta como picos más importantes los mismos que se muestran en (47) para este compuesto. Por otro lado, tanto el espectro de masas como el t_R de nuestro compuesto coinciden con los del T-cadinol, aislado e identificado en nuestro laboratorio en un trabajo sobre estudio del aceite esencial del género Teucrium.

80''. - Está presente en la S. arborescens en concentración del 2,1%. Su espectro de masas (figura 56) muestra picos a $m/e = 218$, 203 y 200, lo que nos lleva a tomar el primero de ellos como ión molecular, y a asignarle fórmula empírica $C_{15}H_{22}O$.

81. Timol. - Identificado por comparación de su espectro de masas y t_R con los de un patrón.

Es un componente común a todas especies, pero destaca su elevada concentración en el aceite de S. foetens y, concretamente, en los tallos de la planta.

82. 6,10,14-Trimetil-2-pentadecanona. - Se identificó por comparación de su espectro de masas con el dado en (13), y con los datos de (10).

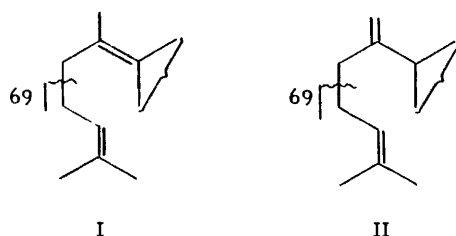
No se separa bien del compuesto siguiente, sin embargo, la peculiaridad de su espectro ha facilitado su detección aunque su concentración fuera baja, como ocurre en la mayoría de los aceites.

83. - Comentario junto al componente 86.

84. Carvacrol. - Se identificó por comparación de su espectro de masas y su t_R con los de un patrón.

85. - Se aisló por cromatografía de columna eluyendo con hexano-éter, 75:25.

Se registró su espectro de masas (figura 57) a diferentes intensidades, con lo que pudo observarse el ión molecular a $m/e = 222$. Se trata por tanto, de un sesquiterpeno con fórmula empírica $C_{15}H_{26}O$. El fragmento a $m/e = 204$ ($M^+ - H_2O$) indica función alcohol, lo que se confirmó al registrar su espectro IR por la presencia de una banda intensa ν_{OH} . Del resto del espectro, el pico a $m/e = 69$ es el que mayor información proporciona, ya que con esta intensidad elevada es típico de las siguientes agrupaciones parciales, en las que la ruptura indicada está muy favorecida por la posición de los dos dobles enlaces.



Del espectro de RMP, se deduce que es la agrupación I la que se presenta y no la II, dada la ausencia de banda propia del grupo metileno terminal y la presencia, sin embargo, de bandas a $\delta = 1,7$ ppm que integra por 9H, asignables a tres metilos conti-

guos a doble enlace, $\text{CH}_3\text{-C=}$. Destacan también en este espectro un singulete a $\delta = 1,2$ ppm que probablemente corresponde a un metilo como el del grupo $\text{CH}_3\text{-}\overset{\text{I}}{\underset{\text{I}}{\text{C}}}\text{-OH}$, lo que correspondería a un alcohol terciario. No obstante, el producto va acompañado de impurezas de los disolventes empleados en su separación que enmascaran bastante el espectro.

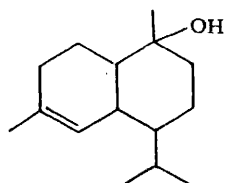
83. 86. Cadinolos. - El t_R de ambos compuestos es bastante diferente.

Sus espectros de masas registrados, bien a partir de las fracciones más polares de columna, bien a partir del aceite completo, son los de las figuras 58 y 59. Como puede observarse estos espectros son muy parecidos entre sí, y a su vez parecidos al espectro del α -cadinol (39), y concordantes con los datos dados en (10) para este mismo compuesto.

Considerando la estructura de cadinol, se observa la presencia de cuatro carbonos asimétricos y, por tanto, la existencia de dieciseis isómeros posibles, ocho pares de enantiómeros. Revisada la bibliografía sobre estos compuestos se han encontrado datos de masas diferentes a los de nuestros compuestos para el δ -cadinol y el T-cadinol, por lo que éstos deben descartarse.

El componente 86 se aisló por CG preparativa y se registró su espectro de RMP (figura 60). En él destacan las siguientes bandas: dos dobletes centrados a $\delta = 0,80$ y $0,95$ ppm, $J = 7$ Hz, atribuibles a un grupo isopropilo; un singulete a $\delta = 1,12$ ppm debido al metilo contiguo al OH; banda ancha a $\delta = 1,55$ ppm que desaparece al registrar el espectro con D_2O , lo que indica que corresponde al OH; banda ancha a $\delta = 1,66$ ppm debida al CH_3 contiguo a

doble enlace; banda ancha a $\delta = 5,5$ ppm debida al protón olefínico. Este espectro confirma la estructura de cadinol,



cadinol

87.- Su espectro de masas (figura 61) indica se trata de un compuesto sesquiterpénico oxigenado, alcohol, dada su elevada polaridad, con fórmula molecular $C_{15}H_{24}O$.

87'.- Se presenta en el aceite de S. chamaedryfolia, con una retención cromatográfica análoga a la del anterior.

Por su espectro de masas (figura 62), $M^+ = 220$, y su gran polaridad deducimos es un alcohol sesquiterpénico de fórmula molecular $C_{15}H_{24}O$. Los datos más parecidos a este espectro que se dan en la bibliografía corresponden al (2S, 5R, 9R)-cariofiladien 1(12), 8(15)-ol-9. Aunque no sea este nuestro compuesto, pues existen diferencias considerables, sí creemos probables, dada la composición de este aceite (32% de cariofileno, 14% de óxido de cariofileno) que este alcohol tenga la estructura de un cariofiladienol.

Por otra parte, puede observarse en dicho espectro la presencia de un pico a $m/e = 204$ debido a alguna impureza. Regis-

trando espectros a diferentes alturas, la mayor concentración de la impureza se ha conseguido en el espectro de la figura 63. En él aparece el ión molecular a $m/e = 264$, lo que indica fórmula empírica $C_{17}H_{28}O_2$ y función acetato de alcohol sesquiterpénico. Los picos a $m/e = 222$ y 204 se originan por la pérdida de cetena y ácido acético, respectivamente.

88.- Su espectro de masas (figura 64) se registró a partir de una fracción polar de columna del aceite de S. tragorignum (8S6/2). Su naturaleza polar y la información que proporciona su espectro de masas nos permite concluir que se trata de un alcohol sesquiterpénico de fórmula molecular $C_{15}H_{24}O$.

89.- Se ha encontrado en el aceite de S. angustifolia, de donde se obtuvo su espectro de masas (figura 65). Analizando dicho espectro y teniendo en cuenta su carácter polar puede decirse que es un alcohol sesquiterpénico de fórmula molecular $C_{15}H_{26}O$.

90.- Se ha encontrado únicamente en el aceite de S. arborescens. Su espectro de masas es el de la figura 66. Los picos a mayor masa, $m/e = 202$ y 205 , son coherentes con ión molecular a $m/e = 220$ y estructura de alcohol sesquiterpénico.

II. COMPOSICION DE LOS ACEITES ESTUDIADOS

En la Tabla III (Apéndice II) se presentan los resultados del estudio analítico cualitativo y cuantitativo (porcentajes) de los diferentes aceites. Encabezando cada columna figura la signatura correspondiente a cada aceite (según Tabla II, p 14). A la izquierda se relacionan los diferentes componentes siguiendo un orden creciente de retención cromatográfica, tal como se han ex-puesto en el apartado "Estudio analítico". En el caso de que no se haya llegado a una identificación total, se indica el número que le corresponde en dicha relación.

Los dos últimos aceites que aparecen en la Tabla corresponden a la S. incana y S. hyssopifolia. Su rendimiento en aceite es tan bajo ($<< 0,1\%$) que no hemos podido disponer de una cantidad adecuada para hacer un análisis cuantitativo fiable. Con un asterisco (*) indicamos los compuestos que se han encontrado en dichos aceites.

Una visión rápida de conjunto de la composición de los diversos aceites, se obtiene de la observación de sus cromatogramas. Por ello, consideramos conveniente realizar los diagramas de sus cromatogramas normalizados (Apéndice III), lo que se lle-vó a cabo en un miniordenador Olivetti P6060, utilizando un programa desarrollado por nosotros.

III. ESTUDIO COMPARATIVO

Con el fin de establecer semejanzas o diferencias entre las especies estudiadas, en base a la composición de su aceite esencial, y buscando el posible interés de estos datos desde un punto de vista taxonómico, procedimos al empleo de técnicas de tratamiento de datos adecuadas para nuestro problema. Es evidente que dada la complejidad de datos que resultan (matriz de 35 aceites x 100 componentes), no se puede abordar el estudio comparativo por simple observación de la tabla de valores, ni siquiera por un tratamiento estadístico sencillo. Ello nos llevó a la utilización del programa ARTHUR que nos proporcionó Kowalski (51). Se trata de un programa de grandes posibilidades en problemas estadísticos y del que nosotros sólo hemos hecho uso de algunas rutinas que hemos considerado de mayor interés en nuestro caso. Estas son, siguiendo la nomenclatura de dicho programa, las siguientes:

DIST calcula la matriz de distancias euclídeas entre cada dos aceites:

$$d_{ij} = \sqrt{\sum_k (x_{ik} - x_{jk})^2}$$

donde x_{ik} , x_{jk} representan las composiciones del componente k en los aceites i y j, respectivamente.

KARLOV realiza una transformación de los datos, generando otros nuevos que son combinación lineal de los anteriores pero linealmente independientes entre sí, y ordenados de acuerdo a una varianza decreciente, mediante el cálculo de los componen-

tes principales.

VARVAR realiza una representación en el plano de los diferentes aceites de acuerdo con su comportamiento frente a las dos variables que se representen. Estas pueden ser dos componentes, o lo que es más representativo, los dos primeros componentes generados por KARLOV.

NLM mediante una serie de iteraciones realiza un "mapa no lineal" del grupo de datos pasando del espacio de n dimensiones (número de componentes considerados) al plano. Los datos así transformados y representados por VARVAR proporcionan una representación óptima de los originales.

PLANE separa mediante hiperplanos posibles pares de categorías. En nuestro caso consideramos como categoría un conjunto de aceites con una característica común.

MULTI de forma análoga al anterior crea hiperplanos que separan una categoría de todas las demás.

CORREL calcula coeficientes de correlación entre componentes.

Todos los cálculos que hacen uso del ARTHUR se han realizado en el Centro de Cálculo Electrónico del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, en un ordenador IBM 360.

Asimismo, se ha utilizado otro programa desarrollado por nosotros que proporciona diagramas jerárquicos, especialmente útiles para establecer agrupamientos, a partir de los datos de

DIST o CORREL, como se indica más adelante. Estos diagramas se representaron en un miniordenador Olivetti P6060.

De los componentes presentes en estos aceites hemos eliminado aquellos aceites que por tener una concentración muy baja hemos considerado poco representativos. Los componentes utilizados en este estudio son los siguientes: α -pineno, β -pineno, sabineno, mirceno, limoneno, β -felandreno, 1,8-cineol, p-cimeno, fenchona, acetato de fenchilo, β -bourboneno, linalol, endo-fenchol, 4-terpineol, cariofileno, germacreno D, δ -cadineno, componente 56, óxido de cariofileno, componente 74, timol, cadinol (I) y componente 85.

Consideramos que la información perdida al tomar esta matriz reducida es mínima y la simplificación en el manejo e interpretación de resultados que así se logra es notable.

Nótese que de este estudio quedan excluidas la S. inca-
na y S. hyssopifolia.

En primer lugar se ha realizado un DIST obteniéndose la matriz diagonal de distancias. Para visualizar mejor estos resultados se ha realizado un diagrama jerárquico con ellos, agrupando los aceites ordenadamente empezando por aquellos que presentan los menores valores de distancias, lo que indica una composición más parecida, ampliando los grupos hasta considerar todos los aceites. El gráfico que así resulta (figura 67), presenta en ordenadas los treinta y cinco aceites estudiados y en abscisas los valores de las distancias. De su observación se deduce la existencia de los siguientes grupos:

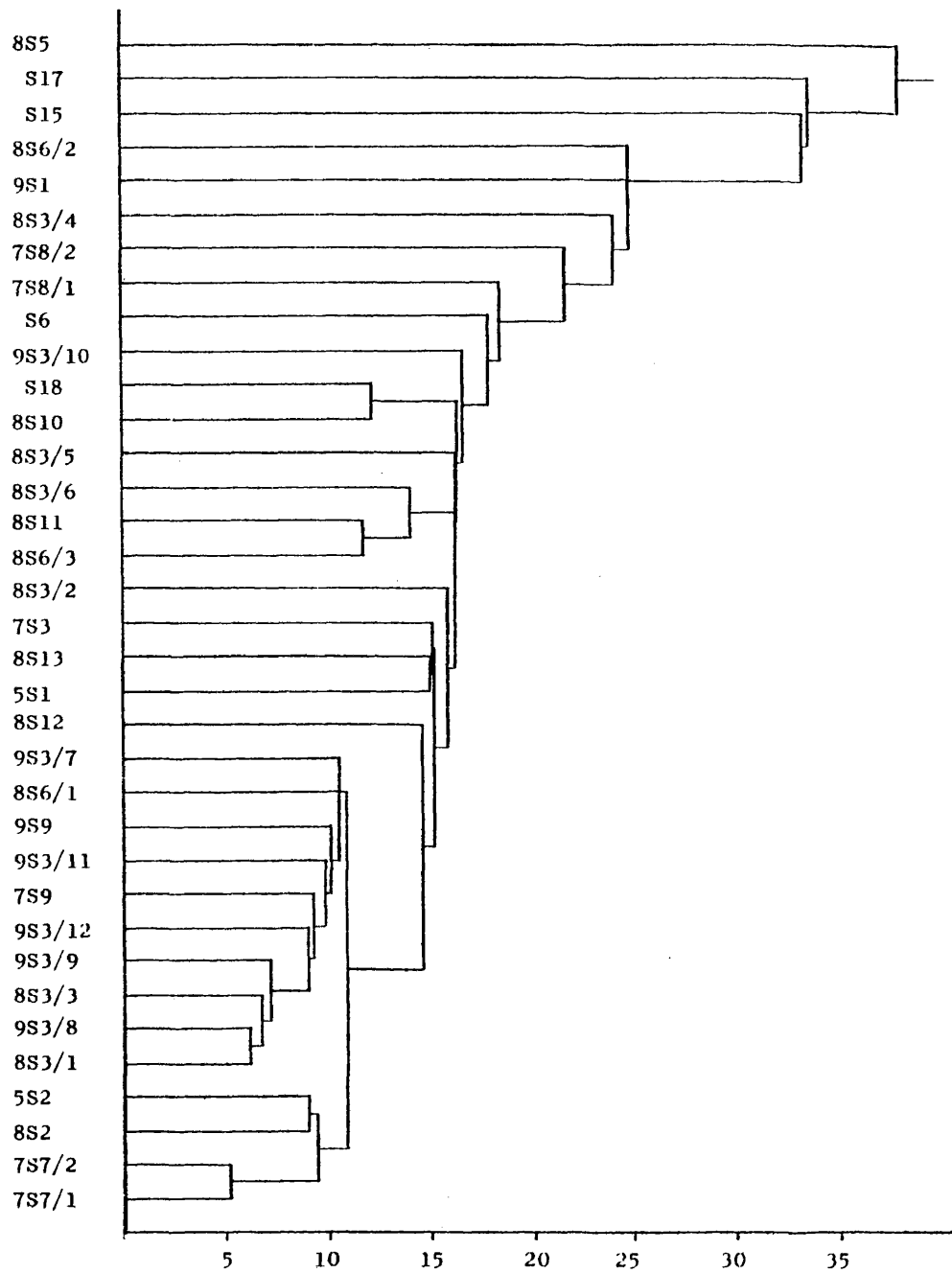


Figura 67

A $d < 11,0$ aparece un gran grupo de aceites en el que a su vez destacan dos subgrupos: uno en que se incluyen los aceites de S. pusilla y S. leucantha, y otro que comprende los aceites de S. leucantha bourgeana, S. tragoriganum (Villajoyosa) y varios de S. hirsuta (Ciruelos (2), Tejadilla, Arganda-Morata, Bº del Infierno, Camporreal y Yepes). Todos ellos tienen en común un alto contenido en α -pineno y medio en 1,8-cineol, aunque más alto en las S. pusilla y S. leucantha. Asimismo, el contenido en fenchona de estas dos especies es mayor.

A distancias un poco mayores, $11,0 < d < 15,1$, se forman tres grupos: 1) S. serrata y S. linearifolia, cuyos aceites tienen los mismos componentes mayoritarios y con composiciones análogas destacando especialmente su alto porcentaje en sabineno, que es probablemente lo que les distingue del resto. 2) S. mugroensis con S. tragoriganum (La Eliana) y S. hirsuta (Cuestas del Ragudo). Esta última probablemente queda más diferenciada por su contenido en germacreno (7,6%), que en general es alto en aceites de S. hirsuta y bajo o nulo en las demás. 3) Engloba todos los aceites considerados en el primer corte, más la S. spinulosa, más otro conjunto de tres aceites: S. flavovirens, S. angustifolia y S. hirsuta (Arganda).

Estos tres grupos junto con S. hirsuta (Morata, Pº de Cabrejas y Alcalá de Henares) forman uno sólo al que se van uniendo a distancias crecientes el resto de los aceites: S. tragoriganum (Torreblanca), S. foetens, S. hirsuta (Valencia ?), S. flavovirens, S. tragoriganum (Pº Albaida), S. arborescens, S. ilicifolia y S. chamaedryfolia. Cabe destacar aquí la diferencia elevada entre estas tres últimas especies nombradas y el resto. La S. chamaedryfolia es realmente una especie bien distinta de las estu

diadas en cuanto a su esencia. Prácticamente no tiene olor y su rendimiento en aceite es mínimo. Destaca en su composición el alto contenido en cariofileno y óxido de cariofileno. Estos mismos componentes son los fundamentales en la S. arborescens. No obstante, las plantas de que hemos extraído el aceite, en el caso de la S. arborescens y S. ilicifolia, permanecieron almacenadas más tiempo de lo habitual y por ello, su composición cuantitativa nos parece menos fiable. Hemos podido comprobar que el contenido en los componentes más volátiles (especialmente hidrocarburos monoterpénicos y éteres) es menor cuanto mayor es el período de almacenamiento de la planta. La S. ilicifolia presenta como componentes fundamentales el linalol y el cadinol (I) (21,9% y 23,6%, respectivamente) lo que le diferencia del resto de los aceites en que estos compuestos están en concentración inferior al 5%. En la S. tragoriganum (Pº Albaida) es de destacar la elevada concentración del componente 85 (20,2%). En la S. flavovirens (9S1) el limoneno junto a fenchona y acetato de fenchilo son los componentes fundamentales. La S. foetens difiere del resto en su elevado contenido en p-cimeno, en el componente 74, en timol y en carvacrol. Las concentraciones relativas varían del aceite de cabezas al de la planta completa, siendo la concentración del componente 74 y del carvacrol doble en cabezas, mientras que el timol está preferentemente en los tallos. Por último, cabe destacar el comportamiento especial de alguna S. hirsuta: La S. hirsuta de Valencia? con un contenido en hidrocarburos monoterpénicos muy bajo y por el contrario, alto en hidrocarburos sesquiterpénicos, germacreno D y δ -cadineno, preferentemente. La S. hirsuta de Alcalá de Henares tiene como componente fundamental además del α -pineno, que es general, el α -felandreno y β -felandreno, lo que es exclusivo de este aceite. En la S. hirsuta del Puerto de Cabrejas destaca el contenido elevado en 1,8-cineol que junto con α -pineno son los

componentes fundamentales.

Mediante el KARLOV se reduce a trece el número de componentes necesarios para explicar un 99% de la varianza, lo que indica fuertes correlaciones entre las proporciones de los diversos componentes.

El VARVAR nos proporciona una representación en el plano de los diferentes aceites en base a su contenido en los dos primeros componentes generados en KARLOV. En este gráfico (figura 68) cada aceite está representado por el número indicativo de su especie. De su observación cabe destacar la presencia de diversas parejas constituidas por aceites de una misma especie: S. pusilla (7), S. leucantha (2), S. leucantha bourgeana (9), S. foetens (8) y S. flavovirens (1). De la S. tragoriganum (6) salen próximas las del Puerto Albaida y La Eliana, y respecto a la S. hirsuta (3) cabe decir que se extiende por todo el plano, pero que hay un grupo que salen próximas y que son las mismas que se agrupaban en el diagrama jerárquico: S. hirsuta de Yepes, Campo rreal, Barranco del Infierno, Arganda-Morata, Tejadilla y Ciruelos (2).

En busca de una mejor representación se ha realizado un NLM seguido de VARVAR que ha proporcionado el gráfico de la figura 69, similar al anterior y del que se han eliminado aquellos aceites cuya composición cuantitativa es menos fiable por proceder de plantas almacenadas durante más tiempo que las restantes. Sobre este gráfico hemos realizado un diagrama de árbol usando las distancias calculadas en DIST. Este diagrama proporciona prácticamente la misma información que el jerárquico pero con mayor claridad en el sentido de que aquí se ve que aceites son los que

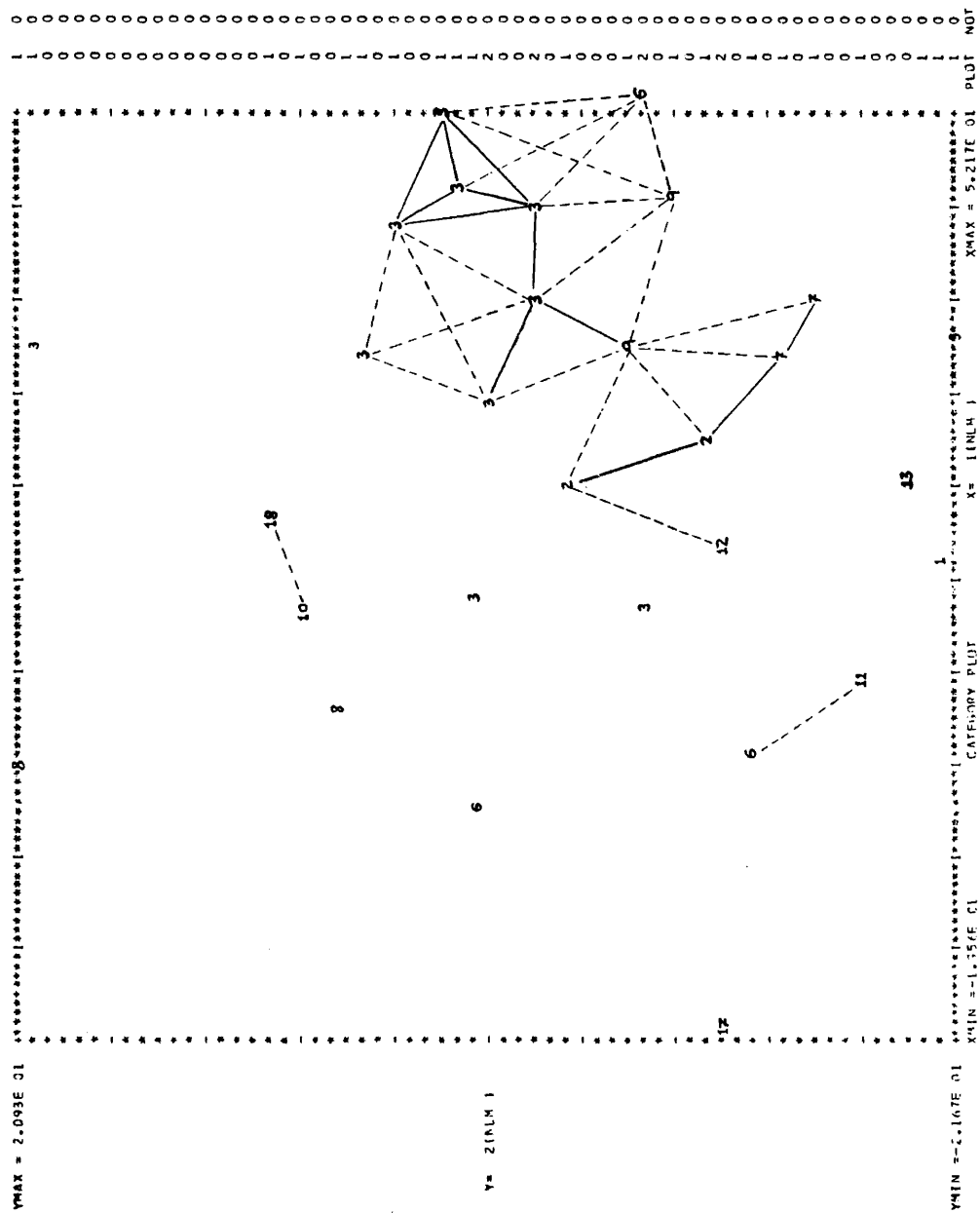


Figura 69

están directamente unidos. Hemos tomado en un primer corte las distancias inferiores a 10,0, quedando unidos (trazo continuo) dos grupos: S. pusilla (7) y S. leucantha (2) de un lado, y S. leucantha bourgeana (9) y S. hirsuta (3) (las agrupadas en el diagrama jerárquico) de otro. En un segundo corte, con distancias comprendidas entre 10,0 y 14,0 se unen (trazo discontinuo) a todas las anteriores la S. hirsuta (3) de Ciruelos, S. leucantha bourgeana (9), S. tragoriganum (6) de Villajoyosa y S. spinulosa (12). Surgen además dos nuevas parejas: S. serrata (10) y S. linearifolia (18) de un lado, y S. mugronensis (11) y S. tragoriganum (6) de La Eliana de otro.

Este mismo proceso se ha seguido con los aceites de S. hirsuta. Se ha realizado el DIST a partir del cual se obtuvo el diagrama jerárquico correspondiente (figura 70), el KARLOV en el que destaca una reducción considerable de componentes (con siete componentes se justifica el 99 % de la varianza) y un VARVAR en el que se toman como coordenadas los dos primeros componentes del KARLOV.

Sobre el gráfico proporcionado por VARVAR (figura 71) hemos trazado el diagrama de árbol correspondiente, con resultados análogos a los que se obtuvieron en el general. Se ha incluido también la S. arborescens (2) para observar si se ponía de relieve el hecho de que la mayoría de las S. hirsutas (representadas en este gráfico por el número 1) son híbridas, a juicio de los botánicos, de la S. arborescens. Habida cuenta que probablemente la única S. hirsuta genuina estudiada por nosotros es la procedente de las Cuestas del Ragudo, y que es una de las más próximas a la S. arborescens en el gráfico, opinamos que no es relevante en este sentido.

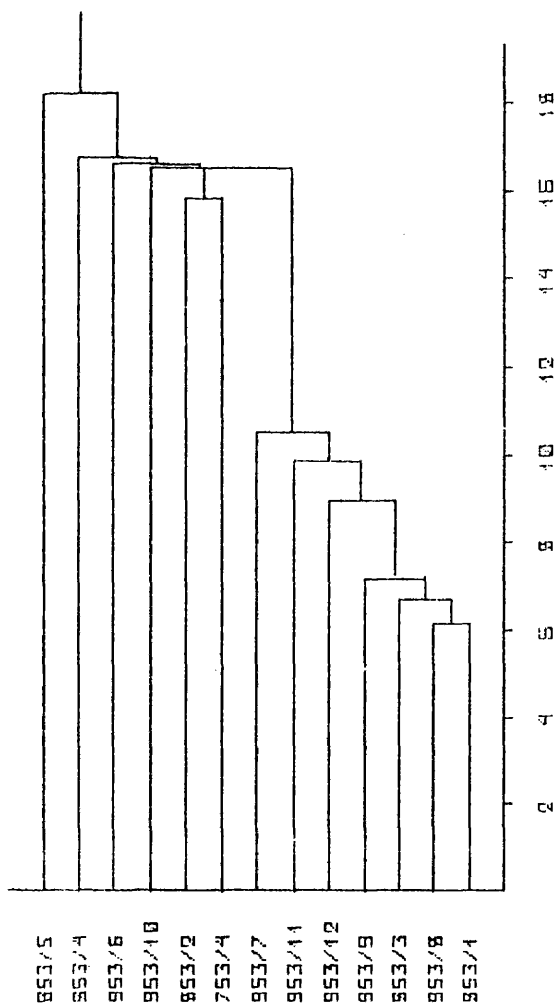


Figura 70

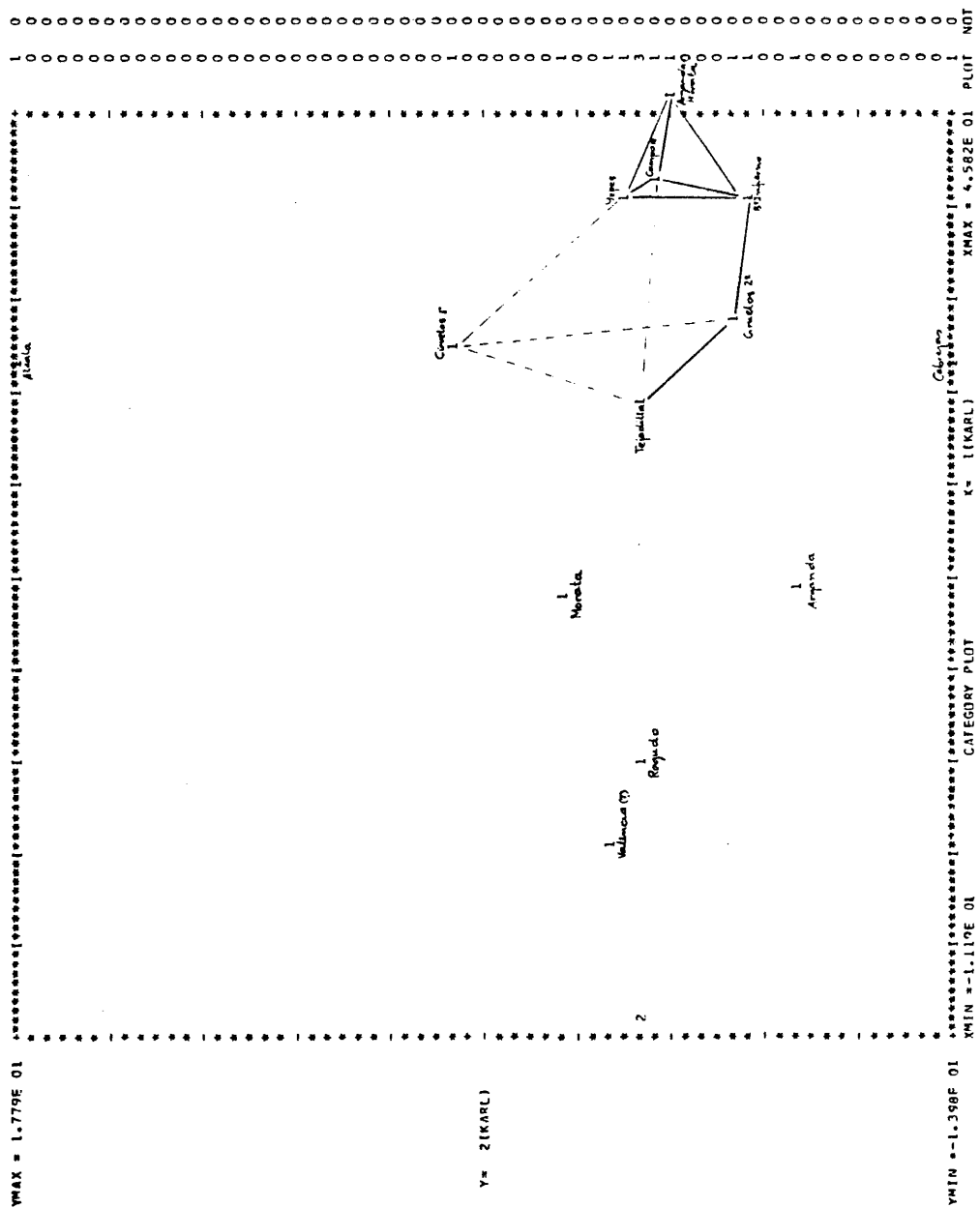


Figura 71

Al aplicar el PLANE se han establecido tres categorías, distribuyendo los aceites en ellas de acuerdo con la clasificación botánica (véase Tabla I). Constituyen la categoría 1 las especies flavovirens, leucantha, tragoriganum, pusilla, mugronensis, angustifolia y chamaedryfolia; la categoría 2, hirsuta, foetens, linearifolia y arborescens; y la categoría 3, leucantha bourgeana, serrata, spinulosa e ilicifolia.

Las ecuaciones de los hiperplanos que separan cada par de categorías se muestran en las páginas siguientes. La clasificación así obtenida es correcta en el 100 % de los casos.

Con estas mismas tres categorías se aplicó el MULTI consiguiéndose una separación correcta entre cada categoría y las otras dos. En la página 86 se dan las ecuaciones de los hiperplanos para cada categoría, y a continuación, para cada aceite se da un número que viene a ser la probabilidad de que dicho aceite pertenezca a cada una de las categorías establecidas.

En el test se incluyeron los aceites de composición cuantitativa menos fiable para evitar su posible influencia en el cálculo de los parámetros. No obstante, puede observarse como han sido clasificados correctamente en la mayoría de los casos.

Los resultados obtenidos con MILTI y PLANE nos permiten predecir con elevada fiabilidad para un nuevo aceite a que categoría de las tres anteriores pertenece. Sería de interés extender este estudio hasta poder predecir la especie, pero ello no es posible en todos los casos debido a que para muchas especies sólo se dispone de un único aceite. Por este motivo hemos agrupado estos aceites, de acuerdo con un criterio de menor disparidad de

CLASSIFIED AS CLASS 1				CLASSIFIED AS CLASS 3			
PATTERN NUMBER	NAME	INPUTED CLASS	DISCRIMINANT	PATTERN NUMBER	NAME	INPUTED CLASS	DISCRIMINANT
10	AS365	2	-5.8314E 00	15	953R10	2	1.2741E 01
				9	853R4	2	2.4796E 00

PLANES SEPARATED CLASS 2 FROM CLASS 3 IN 15 CYCLES. THE WEIGHTING VECTOR IS			
NAME	NUMBER	PERCENT RIGHT	PERCENT LEFT
1	5	16	84.2105
2	3	16	84.2105
3	1	16	100.0000
4	1	16	100.0000

TRAINING SET RESULTS USING THE BEST WEIGHT VECTOR			
PATTERN NUMBER	NAME	CLASS	DISCRIMINANT
5	753	2	-1.2614E 01
6	AS361	2	-8.6613E 00
7	AS362	2	-1.1743E 00
8	AS363	2	-6.4423E 00
11	AS364	2	-1.5645E 00
12	AS367	2	-1.0125E 00
13	AS368	2	-8.8215E 00
14	AS369	2	-6.5741E 00
16	AS3611	2	-1.7666E 00
17	AS3612	2	-2.2231E 00
25	75P61	2	-5.6554E 00
26	75P62	2	-1.4471E 01
28	51P	2	-4.9121E 01
33	51C	2	-5.2635E 00

TRAINING SET RESULTS USING THE BEST WEIGHT VECTOR			
PATTERN NUMBER	NAME	CLASS	DISCRIMINANT
27	59	3	3.8731E 00
28	959	3	3.7506E 00
29	8510	3	1.0949E 01
31	8512	3	2.8088E 00
34	517	3	1.0709E 01

PLANES SEPARATED CLASS 2 FROM CLASS 3 IN 15 CYCLES. THE WEIGHTING VECTOR IS			
NAME	NUMBER	PERCENT RIGHT	PERCENT LEFT
1	5	16	84.2105
2	3	16	84.2105
3	1	16	100.0000
4	1	16	100.0000

TRAINING SET RESULTS USING THE BEST WEIGHT VECTOR			
PATTERN NUMBER	NAME	CLASS	DISCRIMINANT
27	59	3	3.8731E 00
28	959	3	3.7506E 00
29	8510	3	1.0949E 01
31	8512	3	2.8088E 00
34	517	3	1.0709E 01

PLANES SEPARATED CLASS 2 FROM CLASS 3 IN 15 CYCLES. THE WEIGHTING VECTOR IS			
NAME	NUMBER	PERCENT RIGHT	PERCENT LEFT
1	5	16	84.2105
2	3	16	84.2105
3	1	16	100.0000
4	1	16	100.0000

TRAINING SET RESULTS USING THE BEST WEIGHT VECTOR			
PATTERN NUMBER	NAME	CLASS	DISCRIMINANT
27	59	3	3.8731E 00
28	959	3	3.7506E 00
29	8510	3	1.0949E 01
31	8512	3	2.8088E 00
34	517	3	1.0709E 01

PLANES SEPARATED CLASS 2 FROM CLASS 3 IN 15 CYCLES. THE WEIGHTING VECTOR IS			
NAME	NUMBER	PERCENT RIGHT	PERCENT LEFT
1	5	16	84.2105
2	3	16	84.2105
3	1	16	100.0000
4	1	16	100.0000

TRAINING SET RESULTS USING THE BEST WEIGHT VECTOR			
PATTERN NUMBER	NAME	CLASS	DISCRIMINANT
27	59	3	3.8731E 00
28	959	3	3.7506E 00
29	8510	3	1.0949E 01
31	8512	3	2.8088E 00
34	517	3	1.0709E 01

PLANES SEPARATED CLASS 2 FROM CLASS 3 IN 15 CYCLES. THE WEIGHTING VECTOR IS			
NAME	NUMBER	PERCENT RIGHT	PERCENT LEFT
1	5	16	84.2105
2	3	16	84.2105
3	1	16	100.0000
4	1	16	100.0000

TRAINING SET RESULTS USING THE BEST WEIGHT VECTOR			
PATTERN NUMBER	NAME	CLASS	DISCRIMINANT
27	59	3	3.8731E 00
28	959	3	3.7506E 00
29	8510	3	1.0949E 01
31	8512	3	2.8088E 00
34	517	3	1.0709E 01

PATTERN NUMBER	CLASSIFIED AS CLASS NAME	2 INCLUDED CLASS	DISCRIMINANT	CLASSIFIED AS CLASS NAME	3 INCLUDED CLASS	DISCRIMINANT
1E	AS1C1C	2.	-2.0536E C1			
10	AS1C5C	2.	-7.8C72E C0			
5	AS1C4	2.	-3.8515E C0			

MULTI SEPARATED YOUR DATA IN 45 CYCLES (PERFECTLY OF COURSE)

*****WEIGHT VECTOR(S)*****

1	4.122E-01	1.358E-01	2.524E-01	7.175E-02	1.129E-00	-2.703E-01	7.165E-01	-1.210E-00	1.843E-00	1.423E-00
2	1.451E-01	3.427E-01	4.466E-01	1.235E-01	2.576E-01	3.675E-01	4.221E-01	4.432E-01	6.307E-01	1.255E-01
3	4.298E-01	1.387E-01								
4	5.845E-01	4.738E-01	6.695E-02	4.528E-01	1.602E-01	1.650E-00	3.011E-01	2.835E-00	5.880E-02	-1.024E-01
5	1.567E-01	1.888E-01	4.432E-01	3.652E-01	6.127E-01	6.710E-01	6.008E-01	6.419E-01	4.535E-01	7.501E-01
6	4.770E-01	8.446E-01								
7	4.013E-01	7.465E-01	3.341E-00	5.254E-01	2.103E-01	1.208E-01	4.620E-01	-1.257E-01	-4.015E-01	1.797E-01
8	4.467E-02	9.688E-01	5.402E-01	4.089E-01	6.257E-01	4.615E-01	4.771E-01	4.179E-01	4.155E-01	5.604E-01
9	4.901E-01	4.911E-01								

PN INDEX	YCLE INDEX	KPMI	CATEGORY TRUF	CLASS CALC	WEIGHT	CLASS	WEIGHT	CLASS	WEIGHT	CLASS	WEIGHT	CLASS	WEIGHT
1	1	51	1	1	1	5.696E-01	2	3.855E-01	3	2.434E-01			
2	2	951	1	1	1	5.170E-01	2	1.424E-01	3	4.904E-00			
3	3	52	1	1	1	1.530E-01	2	2.940E-01	3	2.905E-01			
4	4	852	1	1	1	4.485E-01	2	2.404E-01	3	2.556E-01			
5	5	56	1	1	1	1.256E-01	2	2.536E-01	3	2.232E-01			
6	6	85680	1	1	1	4.493E-01	2	3.950E-01	3	4.427E-01			
7	7	85681	1	1	1	1.533E-01	2	1.516E-01	3	1.221E-01			
8	8	85682	1	1	1	2.960E-01	2	1.531E-01	3	1.051E-01			
9	9	75761	1	1	1	1.472E-01	2	3.398E-01	3	2.264E-01			
10	10	75762	1	1	1	1.704E-01	2	3.692E-01	3	3.848E-01			
11	11	8511	1	1	1	1.888E-01	2	1.897E-01	3	1.880E-01			
12	12	8512	1	1	1	4.830E-01	2	3.810E-01	3	2.632E-01			
13	13	855	1	1	1	1.020E-01	2	8.204E-00	3	5.599E-00			
14	14	575	2	2	2	1.745E-01	2	3.794E-01	3	1.737E-01			
15	15	85361	2	2	2	1.711E-01	2	4.827E-01	3	2.547E-01			
16	16	85362	2	2	2	1.516E-01	2	4.258E-01	3	2.356E-01			
17	17	85363	2	2	2	1.752E-01	2	4.316E-01	3	2.432E-01			
18	18	85364	2	2	2	1.306E-01	2	1.311E-01	3	5.536E-00			
19	19	95367	2	2	2	2.650E-01	2	4.850E-01	3	1.430E-01			
20	20	95368	2	2	2	2.623E-01	2	5.129E-01	3	4.085E-01			
21	21	55369	2	2	2	1.034E-01	2	4.995E-01	3	2.924E-01			
22	22	55371	2	2	2	1.655E-01	2	4.260E-01	3	2.767E-01			
23	23	953712	2	2	2	1.140E-01	2	3.698E-01	3	2.137E-01			
24	24	75801	2	2	2	1.914E-00	2	5.050E-01	3	2.405E-01			
25	25	75802	2	2	2	-1.167E-01	2	6.865E-01	3	1.728E-01			
26	26	518	2	2	2	1.318E-01	2	4.310E-01	3	4.017E-01			
27	27	515	2	2	2	1.155E-00	2	2.027E-01	3	3.341E-00			
28	28	59	3	3	3	1.578E-01	2	3.179E-01	3	1.673E-01			
29	29	950	3	3	3	4.008E-01	2	4.067E-01	3	4.345E-01			
30	30	9510	3	3	3	2.603E-01	2	1.900E-01	3	4.057E-01			
31	31	8517	3	3	3	2.524E-01	2	3.283E-01	3	1.563E-01			
32	32	517	3	3	3	2.057E-01	2	1.139E-01	3	2.524E-01			

WHICH IS 100.00 PERCENT CORRECT

WELL, I-11 ME CONNECT-AIN-T THAT PRETTY

PROVE YOURSELF, HAVE THEM THE BEST RESULTS...

33	33	953610	2	2	2	1.233E-01	2	6.684E-01	3	2.659E-01
34	34	10 85465	2	2	2	1.595E-01	2	3.745E-01	3	2.490E-01
35	35	85374	2	2	2	1.535E-00	2	6.324E-00	3	1.851E-00

composición, en dos categorías, resultando en conjunto las siguientes: categoría 1, aceites de S. flvovirens; 2, S. leucantha; 3, S. hirsuta; 4, S. tragoriganum; 5, S. pusilla; 6, S. foetens; 7, S. leucantha bourgeana; 8, S. serrata, S. mugronensis, S. spinulosa y S. angustifolia; 9, S. ilicifolia, S. linearifolia, S. chamaedryfolia y S. arborescens.

Los resultados se presentan en las páginas 87 y 88. De nuevo se obtiene una clasificación 100 % correcta.

De las ecuaciones de los hiperplanos se deduce cuales son los componentes más representativos de cada categoría. Así en la S. flavovirens los coeficientes mayores corresponden a acetato de fenchilo y fenchona, en la S. leucantha a limoneno, en la S. hirsuta a β -bourboneno y α -pineno, en la S. pusilla a fenchona, en la S. foetens a p-cimeno, en la S. leucantha bourgeana a α -pineno, en las especies de la categoría 8 a 1,8-cineol y limoneno y en las de la categoría 9 a linalol, β -felandreno y sabineno. Surgen de este modo diez componentes como los de mayor peso en la separación de especies y tal vez, suficientes para realizar el estudio comparativo que se pretende. Estos diez componentes son los siguientes: α -pineno, sabineno, limoneno, β -felandreno, 1,8-cineol, p-cimeno, fenchona, acetato de fenchilo, β -bourboneno y linalol. Con ellos se procede de forma análoga realizando el DIST con su correspondiente diagrama jerárquico, el KARLOV y VAR-VAR sobre cuya representación se traza el diagrama de árbol. Los resultados aparecen en las figuras 72 y 73.

En el diagrama jerárquico aparecen agrupados los mismos aceites que lo estaban en el otro diagrama (página 74). Se observa mejor la similitud entre algunos aceites como es el caso de

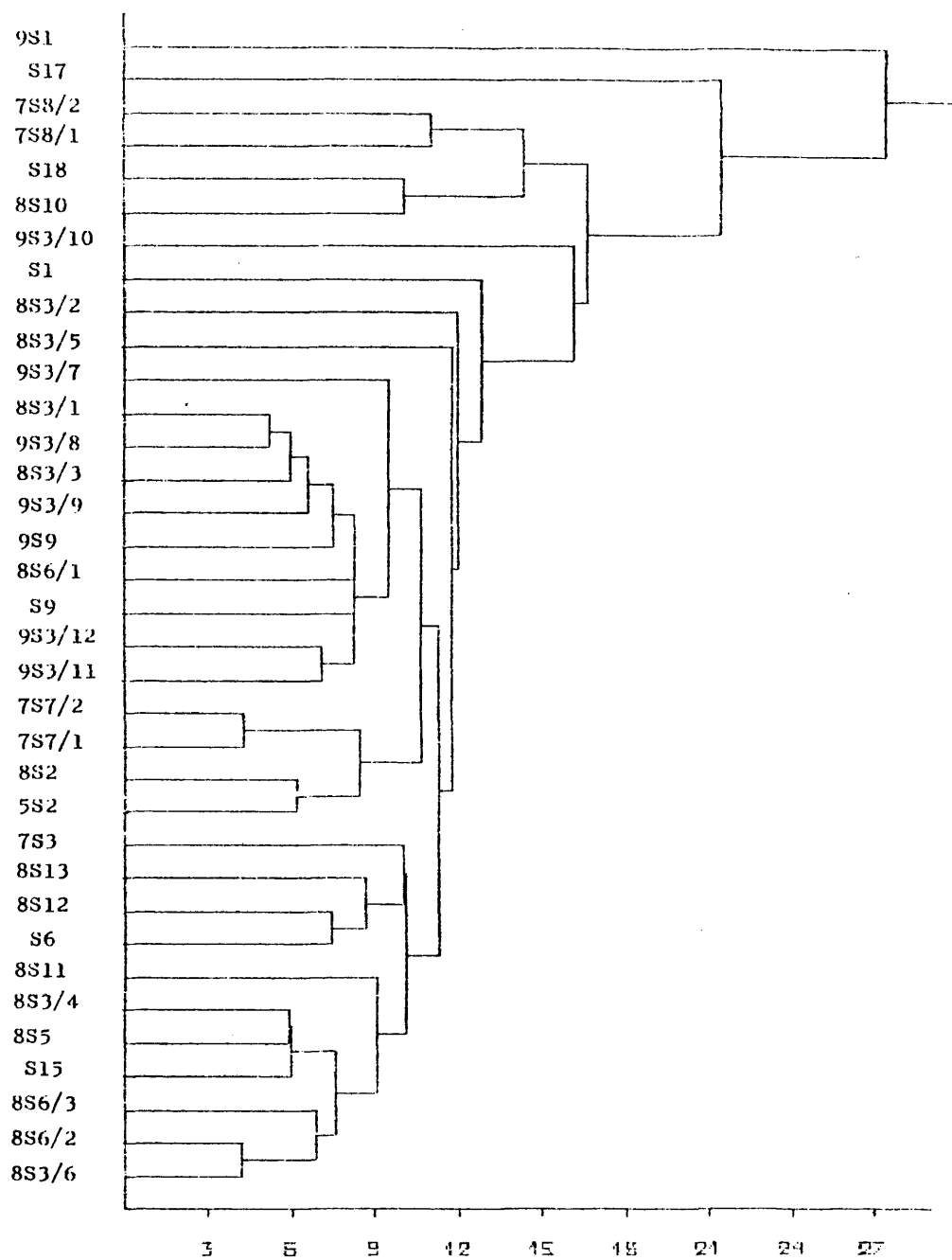


Figura 72

91.

Figura 73

la S. foetens (7S8/1 y 7S8/2). Pero aparecen nuevos grupos como son los formados por los aceites 8S3/6 y 8S6/2, o por S15, 8S5 y 8S3/4. Esto mismo se observa en el diagrama de árbol de la página 91. Se trata de aceites con porcentajes muy parecidos en los componentes considerados pero que difieren bastante en el resto, como se pone de manifiesto en los primeros diagramas, lo que indica que considerando sólo los diez componentes citados se pierde información de cierto interés.

Otros cálculos han estado orientados al establecimiento de relaciones entre componentes. En este sentido se ha aplicado el DIST y el CORREL que calculan las distancias y los coeficientes de correlación entre cada dos componentes, respectivamente.

El diagrama jerárquico obtenido con los valores de las distancias es el de la figura 74. Procediendo del mismo modo con los coeficientes de correlación y tomando los inversos se obtiene el gráfico de la figura 75. La diferencia fundamental entre ambos está en que en el primero se opera con concentraciones reales, mientras que en el segundo se hace con concentraciones normalizadas. Por ello, en el primero el α -pineno que es compuesto fundamental en la mayoría de los aceites, sale muy diferente al resto y no así en el segundo.

En general, los coeficientes de correlación son bajos. La Tabla IV recoge todas las parejas de compuestos que presentan coeficientes de correlación superiores a 0,5. De acuerdo con ella, así como con el diagrama jerárquico, se pueden establecer los siguientes grupos de compuestos más interrelacionados:

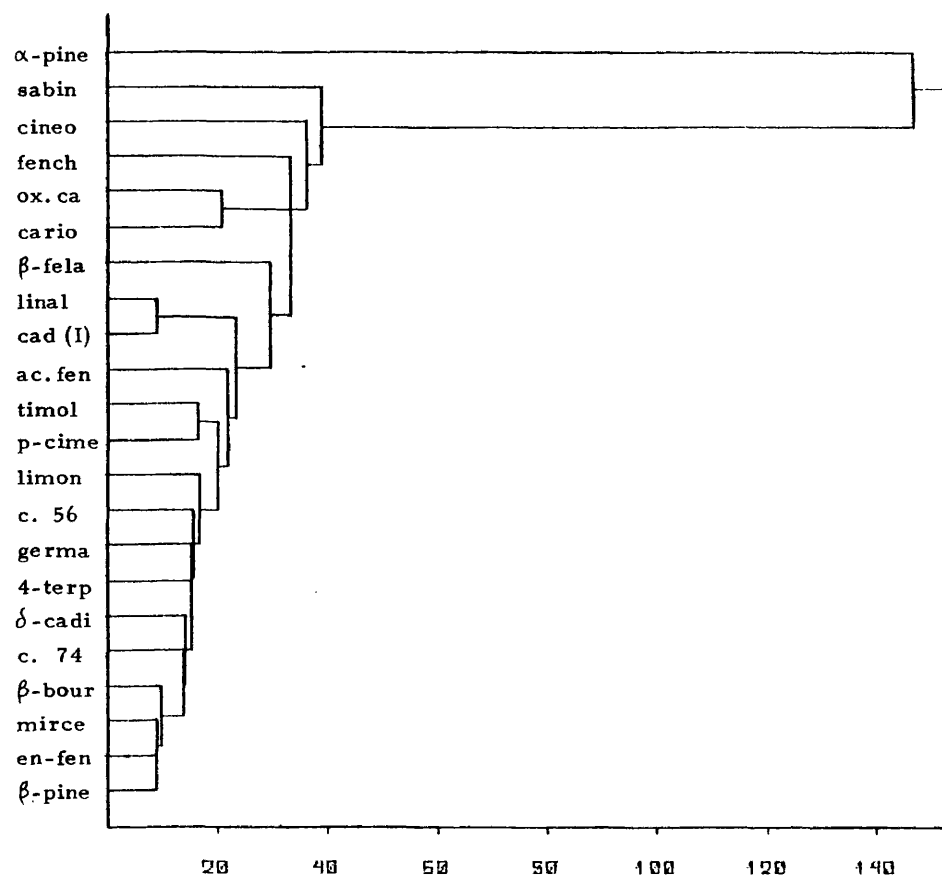


Figura 74

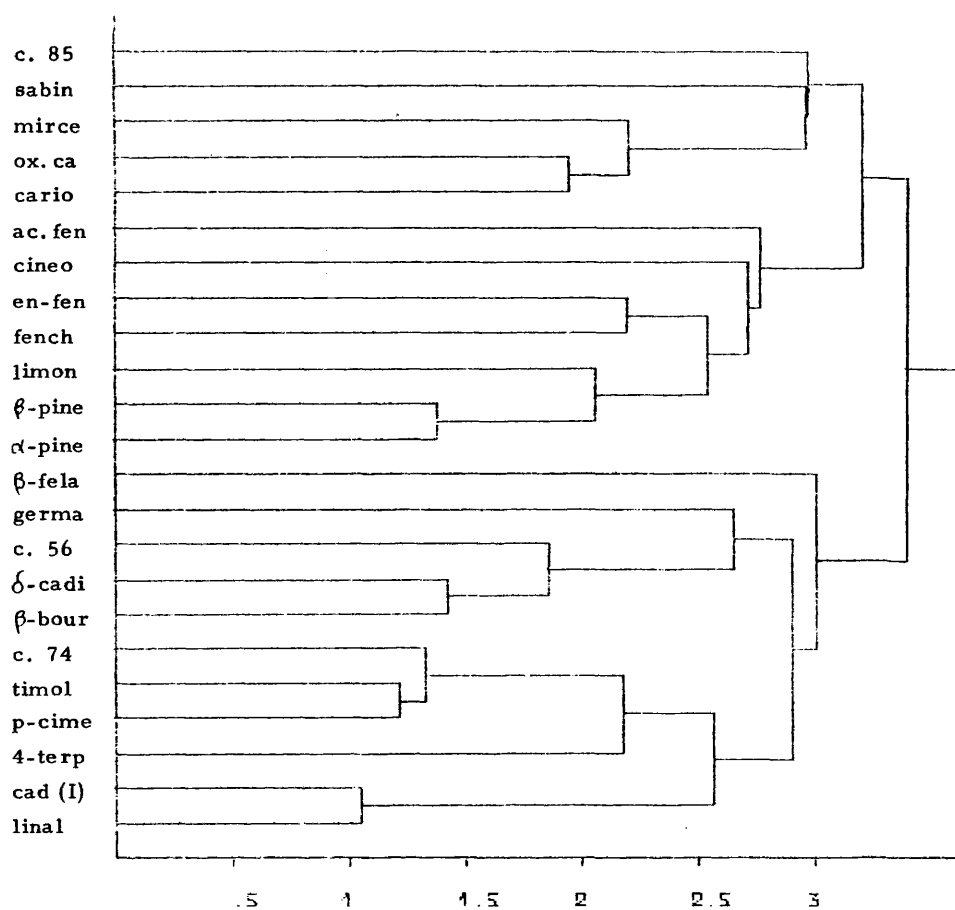


Figura 75

Linalol y cadinol (I)
 Timol, p-cimeno y componente 74
 α -Pineno y β -pineno
 β -Bourboneno, δ -cadineno y componente 56
 Cariofileno y óxido de cariofileno

Algunas de estas agrupaciones parecen lógicas en el sentido de que sus componentes presentan analogía en su estructura y pudieran apuntar un origen biogenético común o interrelacionado (p-cimeno-timol, α -pineno- β -pineno, cariofileno-óxido de cariofileno).

TABLA IV

<u>Componentes</u>	<u>Coefficiente de correlación</u>
Linalol y cadinol (I)	0,947
p-Cimeno y timol	0,824
p-Cimeno y componente 74	0,755
α -Pineno y β -pineno	0,723
β -Bourboneno y δ -cadineno	0,703
δ -Cadineno y componente 56	0,537
Cariofileno y óxido de cariofileno	0,514

Calculados los coeficientes de correlación de estos mismos componentes en los aceites de *S. hirsuta* exclusivamente, destaca los valores elevados de éstos, sobre todo en comparación con los anteriores. Esto era previsible, pues en KARLOV se puso de manifiesto la existencia de fuertes correlaciones entre las proporciones de los componentes (reducción de los veintitrés componentes a sólo siete).

Análogamente se ha realizado el diagrama jerárquico con los inversos de los coeficientes de correlación obtenidos (figura 76) y se han recogido los valores máximos de éstos ($> 0,7$) en la Tabla V. Atendiendo a estas correlaciones se pueden formar los siguientes grupos:

α -Pineno, β -pineno, sabineno y limoneno
 Acetato de fenchilo, β -bourboneno, endo-fenchol, componente 74 y timol
 p-Cimeno y 4-terpineol
 δ -Cadineno, componente 56 y cadinol (I)
 Cariofileno y óxido de cariofileno

TABLA V

<u>Componentes</u>	<u>Coefficiente de correlación</u>
Cariofileno y óxido de cariofileno	0,991
4-Terpineol y p-cimeno	0,898
Componente 56 y cadinol (I)	0,893
β -Pineno y sabineno	0,874
Componente 74 y timol	0,792
β -Bourboneno y componente 74	0,787
α -Pineno y sabineno	0,784
δ -Cadineno y cadinol (I)	0,750
Acetato de fenchilo y <u>endo</u> -fenchol	0,737
Limoneno y β -pineno	0,726
α -Pineno y β -pineno	0,701

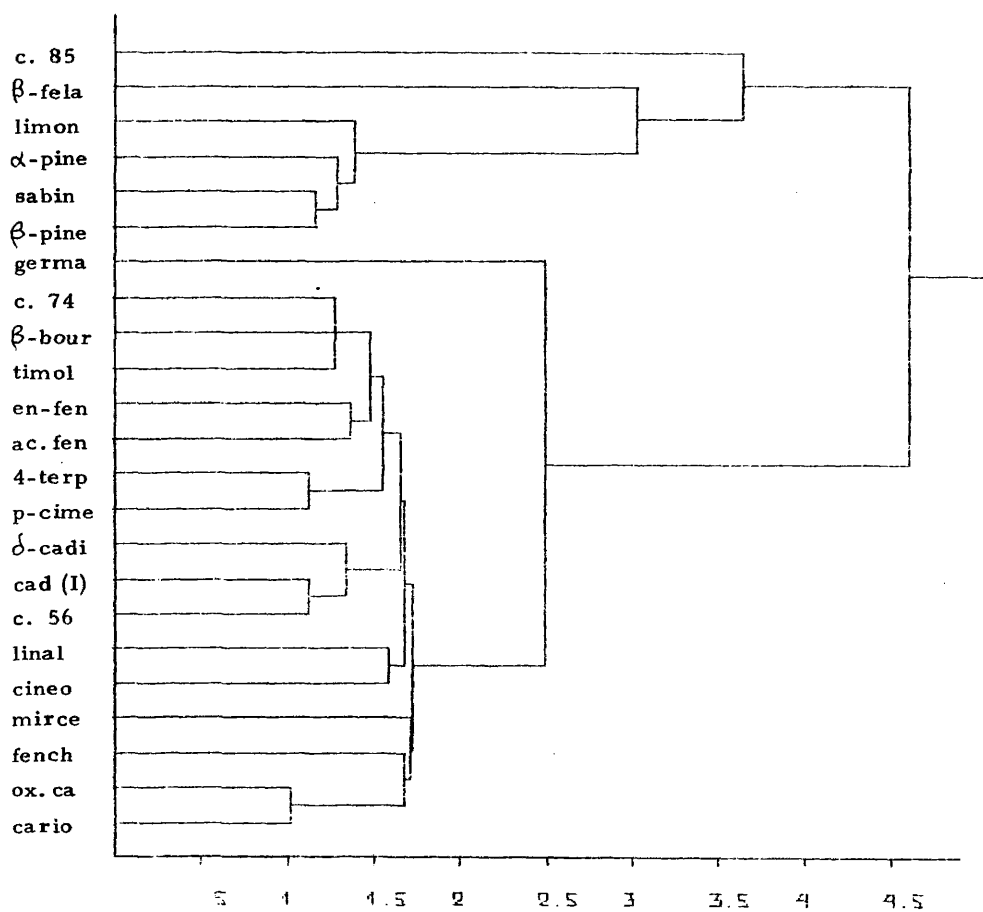


Figura 76

CONCLUSIONES

1. Se ha realizado el estudio analítico cualitativo y cuantitativo de treinta y siete aceites esenciales obtenidos por no sotros de plantas procedentes de diecisiete especies diferentes del género Sideritis, endémicas de España la mayoría de ellas, recogidas en lugares diversos de la geografía española (Centro y Sur-Este, preferentemente), cuya relación y origen figuran en la Tabla II. De este género no se había realizado hasta la fecha ningún estudio sobre las características de sus aceites.

2. Como puede observarse en dicha Tabla, de algunas de las especies se han recogido muestras en lugares y fechas distintos para conocer las variaciones de composición de sus aceites con su origen, fecha de recolección, etc.

3. En todos los casos se han obtenido los aceites por el método de arrastre con vapor, por reciclación de agua, con el objeto de que los datos obtenidos en el análisis sean comparables para las distintas muestras.

4. Se han aplicado, como métodos básicos de trabajo para la identificación de componentes, la cromatografía de gases y el acoplamiento cromatografía de gases-espectrometría de masas, por considerar estas técnicas idóneas en el análisis de mezclas volátiles complejas como son los aceites esenciales, dado el elevado

poder separador de la cromatografía de gases y la gran sensibilidad de la espectrometría de masas. Estas circunstancias nos han llevado a un estudio práctico de las condiciones operatorias más adecuadas para ambas técnicas con los resultados expuestos en la "Parte Experimental".

5. Asimismo, se han ensayado diversos tipos de columnas obteniendo los mejores resultados con columnas capilares abiertas de vidrio, dada su elevada eficacia y resolución. La fase estacionaria que proporcionó mejores separaciones fue Carbowax 20 M.

6. Como técnicas de fraccionamiento y separación de componentes se han empleado la cromatografía de columna y la cromatografía de gases preparativa, esta última fundamentalmente para aislar productos puros, en cuya caracterización han jugado un papel importante otras técnicas analíticas como son las espectroscopías de infrarrojo y resonancia magnética nuclear.

7. Se han identificado completamente sesenta y siete componentes, cuya relación detallada aparece en el apartado I de "Resultados y Discusión". La mayoría de ellos son de naturaleza terpénica, monoterpenos y sesquiterpenos con funciones orgánicas diferentes: hidrocarburos y alcoholes, fundamentalmente; y en menor proporción, fenoles, cetonas, éteres y ésteres, concretamente acetatos. Otro grupo de compuestos, minoritarios todos ellos, son alcoholes de cadena lineal de diferente número de átomos de carbono: C_6 , C_8 , C_{10} y C_{12} .

8. Se han caracterizado cuarenta componentes más, entre los que figuran cuatro hidrocarburos sesquiterpénicos, siete

alcoholes monoterpénicos, tres éteres sesquiterpénicos, dieciseis alcoholes sesquiterpénicos, un acetato sesquiterpénico y cinco alcoholes lineales. Para varios de ellos, aunque no se ha llegado a una identificación total, se proponen estructuras parciales o totales. Existen además cinco compuestos sesquiterpénicos oxigenados cuya función orgánica no ha sido determinada con seguridad.

9. Se han determinado las proporciones de los diferentes componentes en cada uno de los aceites por cromatografía de gases, siguiendo el método del patrón interno. Los resultados se presentan en la Tabla III (Apéndice II).

10. Mediante el empleo de técnicas de tratamiento de datos se ha realizado un estudio comparativo de todos los aceites que ha puesto de relieve las semejanzas y diferencias entre ellos, estableciendo grupos que en ocasiones concuerdan con las clasificaciones botánicas y que pueden tener interés como un dato más a tener en cuenta, desde un punto de vista taxonómico. Se han determinado los componentes más representativos de los grupos anteriores, así como las correlaciones de estos componentes entre sí. Asimismo, se han calculado unos parámetros que permiten, dada la composición de un aceite, asignar la especie o grupo de especies a que corresponden.

11. Se ha podido confirmar que la composición cuantitativa de estos aceites esenciales depende de diversos factores externos: clima, suelo, estado de floración de la planta, etc., y de otros inherentes al análisis mismo: periodo de almacenamiento de la planta y aceite, tratamiento de la planta para la obtención del aceite, etc. Además estas plantas se cruzan con gran facilidad, presentando un gran número de híbridos que como hemos podido ob

101.

servar en algunas especies difieren bastante en la composición de su aceite esencial.

B I B L I O G R A F I A

1. MATEO, C., MORERA, M.P., SANZ, J., CALDERON, J. y HERNANDEZ, A.; Riv. Ital. Essenze, Profumi, Piente Off., Aromi, Saponi, Cosmet., Aerosol, 60, 621 (1978).
2. CARRERAS, L.M.; Trab. Dep. Bot. Fisiol. Veg., Univ. Madrid, 3, 39 (1971).
3. CREMER, E. y GRUBER, H.L.; Chromatog., 3, 8 (1965).
4. RIHAGE, R. y von SYDOW, E.; Acta Chem. Scand., 17, 2025 (1963).
5. von RUDOLF, E. y COUCHMAN, F.M.; Can. J. Chem., 42, 1890 (1964).
6. KLOUWEN, M.H. y ter HEIDE, R.; J. Chromatog., 7, 297 (1962).
7. WALLER, G.R.; "Biochemical Applications of Mass Spectrometry", Wiley-Interscience, New York, 355, 1972.
8. SHEPHARD, F.W., SHINGLER, A.J. y GLANTURCO, M.A.; J. Agr. Food Chem., 15(1), 36 (1967).
9. HONKANEN, E. y MOISIO, T.; Ac. Chem. Scan., 17, 2051 (1963).
10. SCHREIER, DRAWERT y JUNKER; J. Agr. Food Chem., 24(2), 331 (1976).
11. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; Arch. Mass

Spectral Data, 1, 511 (1970).

12. MOSHONAS, M.G. y LUND, E.D.; The Flavour Industry, Junio 1970, 378.
13. NOSE, M., NAKATANI, J. y YAMINISHI, T.; Agr. Biol. Chem., 35(2), 261 (1971).
14. ANDERSEN, N.H. y SYRDAL, D.D.; Phytochem., 9, 1325 (1970).
15. YATES, R.L. y WENNINGER, J.A.; J. of the A.O.A.C., 53(5), 941 (1970).
16. MATSUO, A., NAKAYAMA, M. y HAYASHI, S.; Bull. Chem. Soc. Japan, 46, 1010 (1973).
17. ANDERSEN, N.H. y FALCONE, M.S.; J. Chromatog., 44, 52 (1969).
18. IWAMURA, J., BEPPU, K. y HISAO, N.; Bunseki Kiki, 14(2), 112 (1976).
19. von SYDOW, E.; Acta Chem. Scand., 17(9), 2504 (1963).
20. WILLHALM, B., THOMAS, A.F. y STOLL, M.; Acta Chem. Scand., 18, 1573 (1964).
21. IWAMURA, J., BEPPU, K. y HISAO, N.; Bunseki Kiki, 14(3), 162 (1976).
22. MUSER, J.I.; Molecular Physics, 6, 93 (1963).
23. COHEN, A., LAVERGNE, J.P., LEBLANC, A. y VIALLEFONT, P.H.; Bull. Soc. Sc. Nat. et Phys. du Maroc, Tomo 52, 1º y 2º trimestres de 1972.
24. MURRAY, K.E.; Aust. J. Chem., 22, 197 (1969).
25. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; Arch. Mass

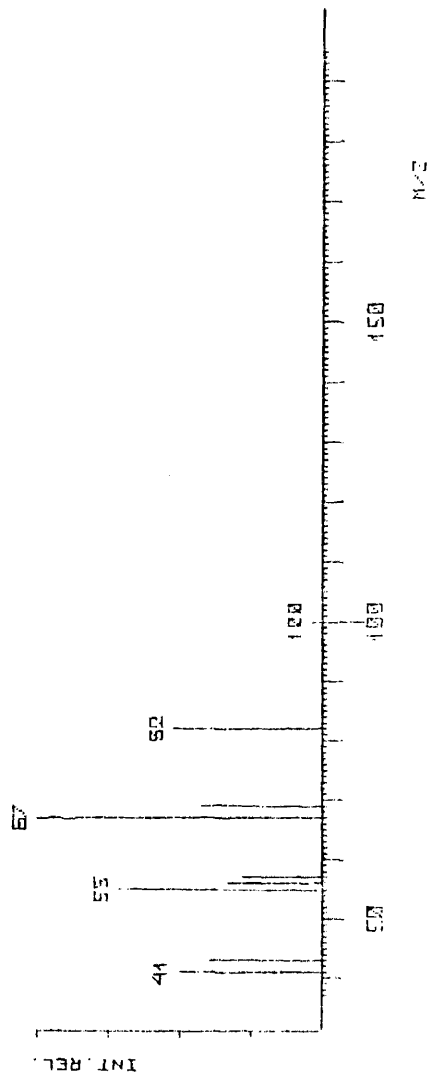
- Spectral Data, 1, 441 (1970).
26. RUSSELL, G.F. y JENNIGES, W.G.; J. Agr. Food Chem., 17 (5), 1107 (1969).
 27. MARTELI, A., NANO, G.M. y FUNDARO, A.; Ann. Chim. (Rome), 60(10-11), 697 (1970).
 28. SENDRA, J.M. y CUÑAT, P.; Agroquímica y Tecnología de Alimentos, 19(1), 102 (1979).
 29. SAKAI, T., YOSMIHARA, K. y HIROSE, Y.; Bull. Chem. Soc. Japan, 41, 1945 (1968).
 30. von SYDOW, E.; Acta Chem. Scand., 18(5), 1099 (1964).
 31. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; Arch. Mass Spectral Data, 1, 545 (1970).
 32. BELLANATO, J. e HIDALGO, A.; "Infrared An. of Ess. Oils", Heyden and son, Ltd, Gran Bretaña, spec. 61, 1971.
 33. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; Arch. Mass Spectral Data, 1, 491 (1970).
 34. OHLOFF, G. y GIERSCHE, W.; Helv. Chim. Acta, 51, 1328 (1968).
 35. GARNERO, J.; Riv. Ital. Essenze, Profumi, Piente Off., Aromi, Saponi, Cosmet., Aerosol, 58, 105 (1976).
 36. GARNERO, J. y BUIL, P.; Riv. Ital. Essenze, Profumi, Piente Off., Aromi, Saponi, Cosmet., Aerosol, 58, 486 (1976).
 37. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; Arch. Mass Spectral Data, 1, 543 (1970).
 38. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; Arch. Mass Spectral Data, 1, 505 (1970).

39. HAYASHI, S., SATO, H., HAYASHI, N., OKUDE, T. y MATSUURA, T.; J. Sci. Hiroshima Univ. Ser. A-II, 31(3), 217 (1967).
40. WALLER, G.R.; "Biochemical Applications of Mass Spectrometry", Wiley-Interscience, New York, 360, 1972.
41. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; Arch. Mass Spectral Data, 1, 507 (1970).
42. MAURER, B. y GRIEDER, A.; Helv. Chim. Acta, 60(7), 2177 (1977).
43. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; Arch. Mass Spectral Data, 1, 497 (1970).
44. WENNIGER, J.A., YATES, R.L. y DOLINSKY, M.; J. Assoc. Offic. Anal. Chem., 50(6), 1313 (1967).
45. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; Arch. Mass Spectral Data, 1, 401 (1970).
46. von SYDOW, E., ANJOU, K. y KARLSSON, G.; Arch. Mass Spectral Data, 1, 481 (1970).
47. TRESEL, R., FRIESE, L., FENDESACK, F. y KOPLER, H.; J. Agr. Food Chem., 26(6), 1422 (1978).
48. YAMANASHI, T., NOSE, M. y NAKATANI, Y.; Agr. Biol. Chem., 34(4), 599 (1970).
49. HILL, H.C., REED, R.I. y ROBERT-LOPES, M.T.; J. Chem. Soc., C(1), 93 (1968).
50. N.B.S. Library. Espectrómetros de masas FINNIGAN 4.000.
51. DUEWER, D.L., KOSKINEN, J.R. y KOWALSKI, B.R.; Labo-

ratory for Chemometrics, Department of Chemistry BG-10,
University of Washington, Seattle, Washington 98195.

A P E N D I C E I

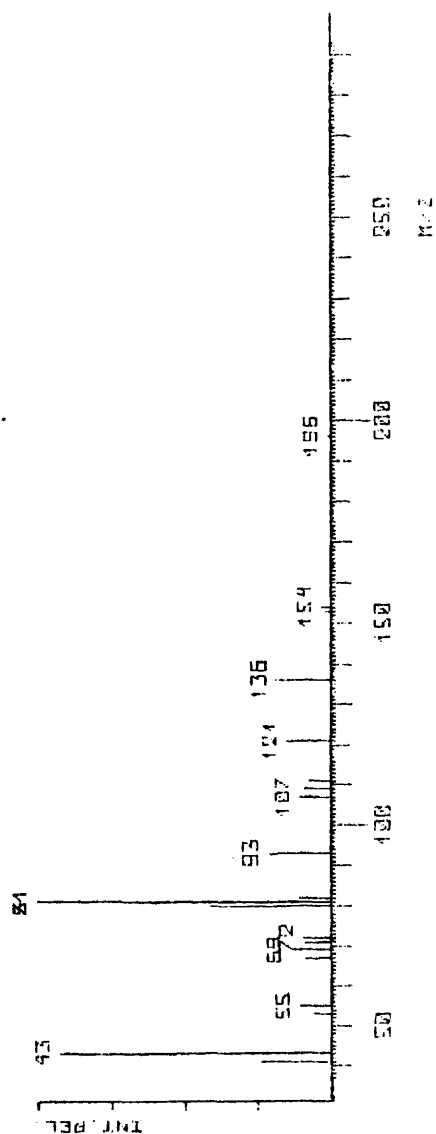
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	50.7	55	32.9	69	42.5
43	39.7	57	27.4	82	52.1
55	71.2	67	100.0	100	3.4



HEXENOL

Figura 3

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	23.7	72	9.2	111	6.6
43	92.1	80	40.8	121	14.5
53	5.3	81	100.0	135	19.4
55	10.5	82	10.3	153	1.8
67	7.9	93	20.1	154	2.6
69	12.2	107	10.5	196	0.8
71	7.9	109	7.9		



ACETATO DE FENCHILO

Figura 4

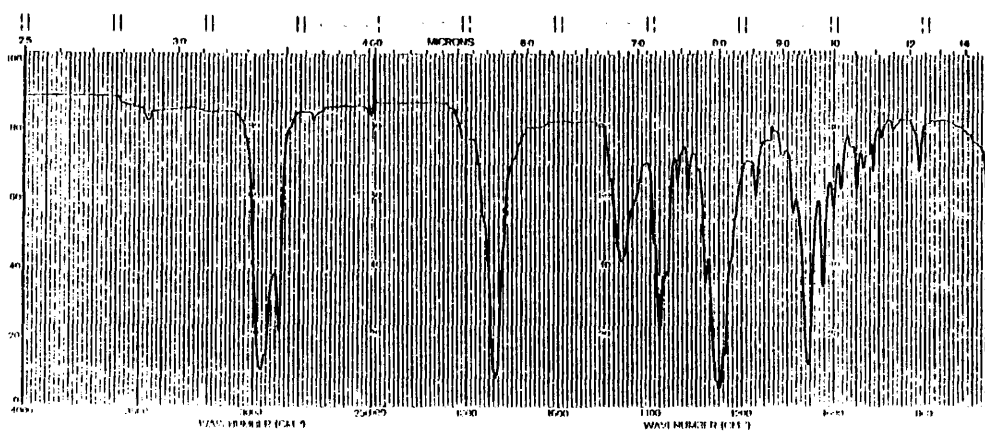


Figura 5

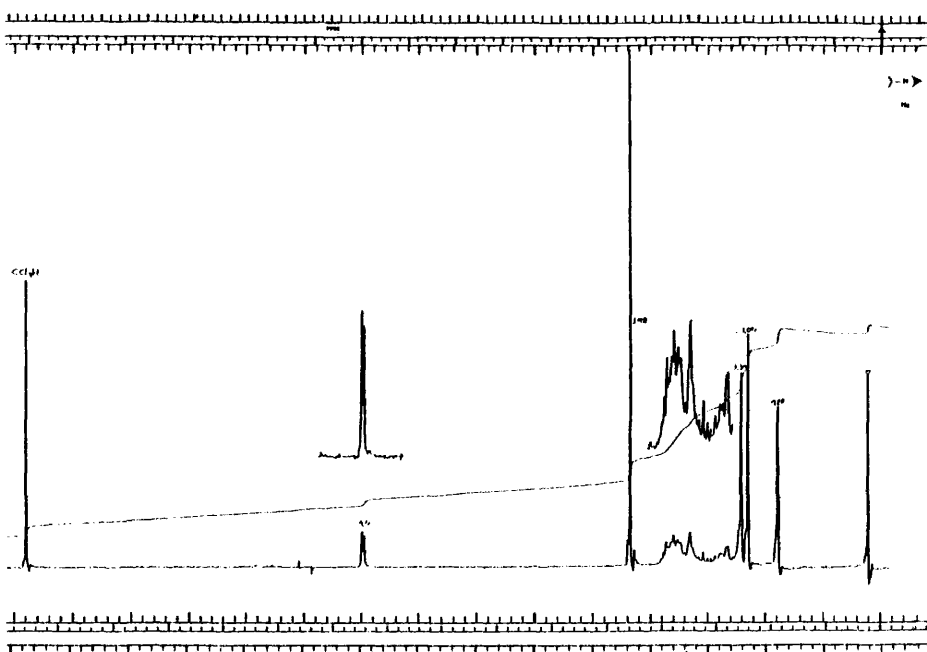
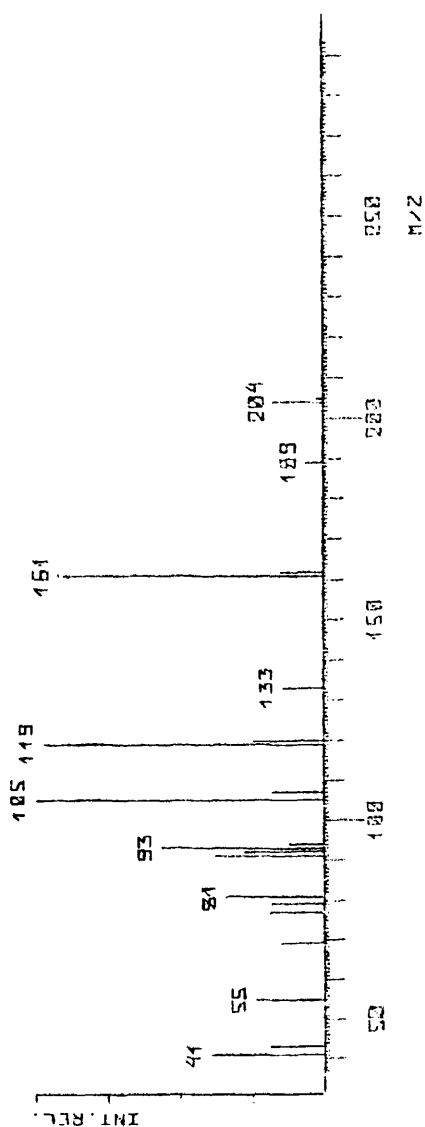


Figura 6

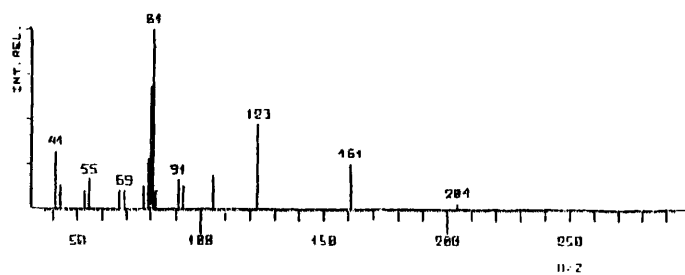
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	39.3	91	37.0	120	24.4
43	18.5	92	28.1	133	14.1
55	23.7	93	58.3	151	31.9
69	14.8	94	11.9	162	14.8
77	18.5	105	100.0	189	5.9
79	17.3	107	17.8	204	17.0
81	34.1	119	57.0	205	2.2



ALFA-COPRENO

Figura 7

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
44	31.3	77	12.5	93	12.5
51	12.3	79	28.1	105	12.8
53	9.4	106	69.6	123	45.9
55	15.6	81	100.0	151	25.0
67	9.4	82	10.0	204	2.5
69	9.4	91	15.6		



B-BOURBONNEO

Figura 8

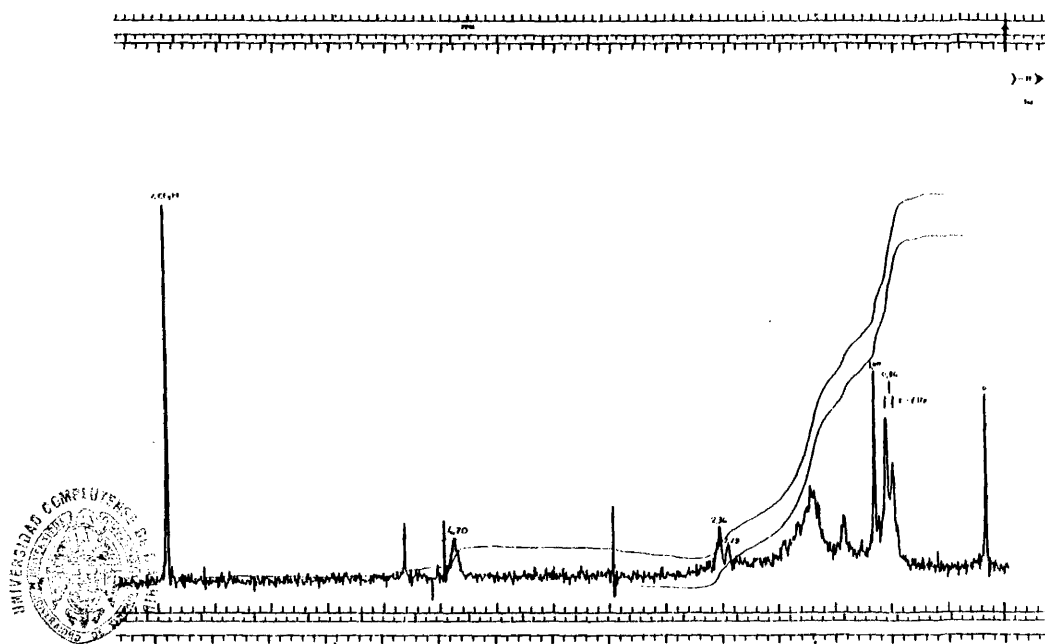


Figura 9

112.

m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	100.0	56	77.1	83	27.1
42	43.7	57	52.1	84	31.2
43	87.5	69	68.4	112	0.2
55	70.8	70	54.2		

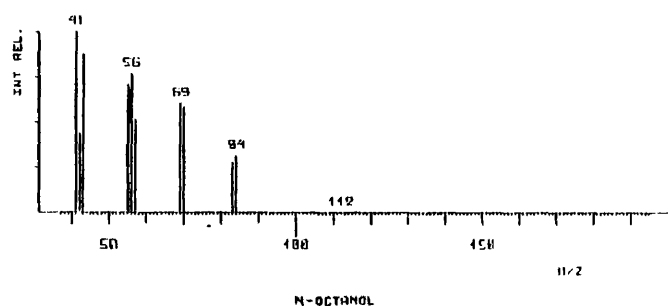


Figura 10

m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	83.6	56	100.0	83	38.4
42	55.7	57	38.0	84	46.5
43	73.4	69	58.2	112	2.5
55	82.3	70	53.2		

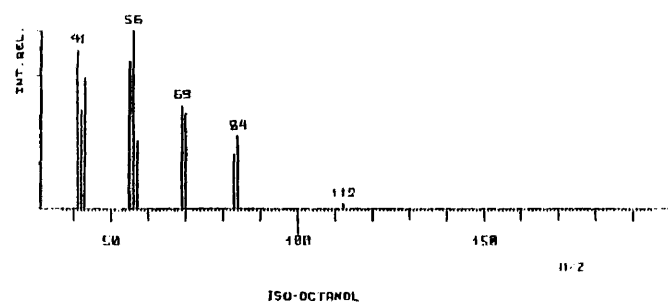
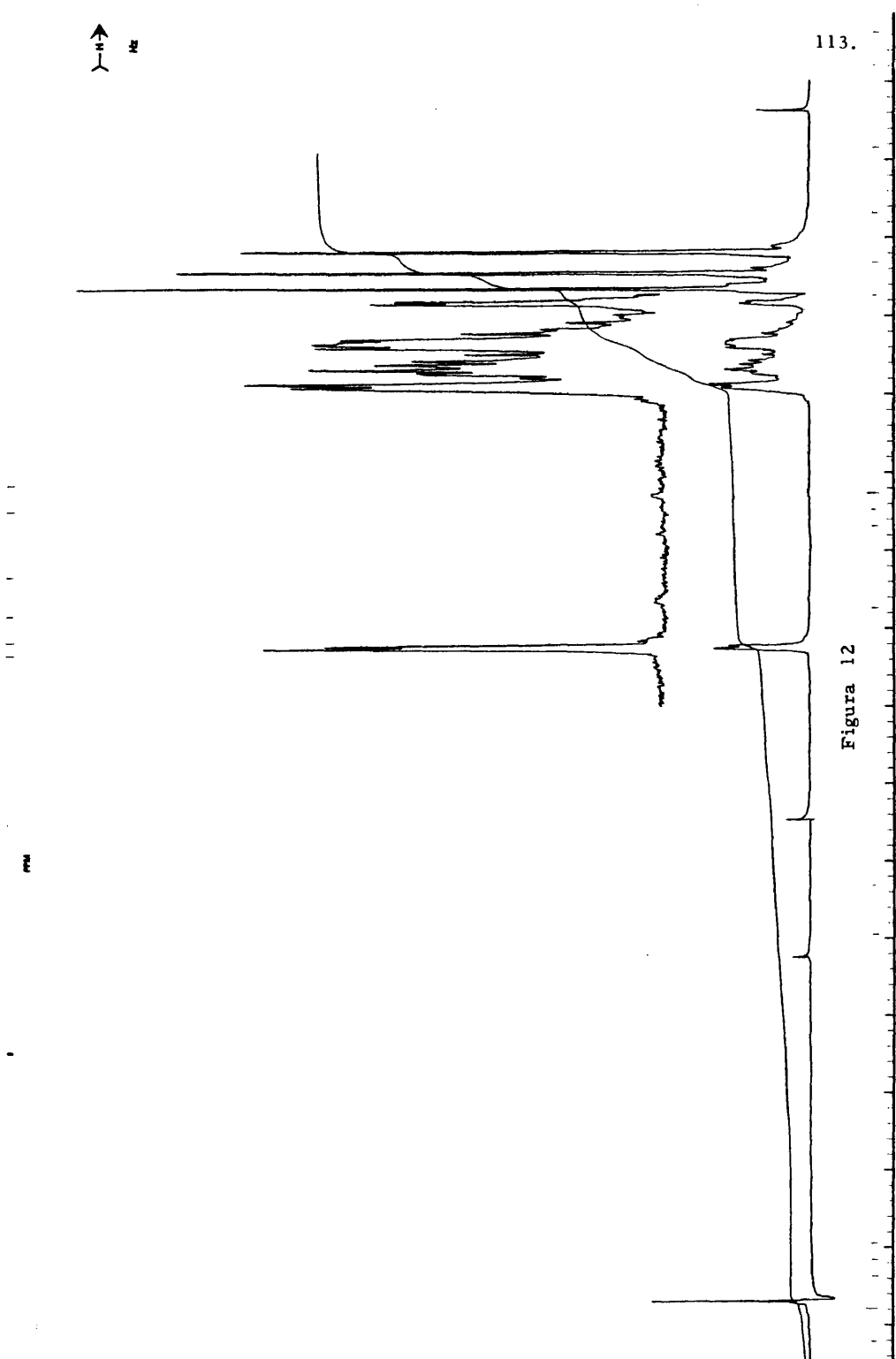


Figura 11



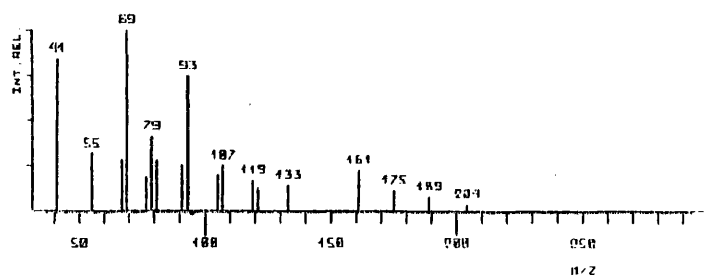
113.

Figura 12

↑
2

114.

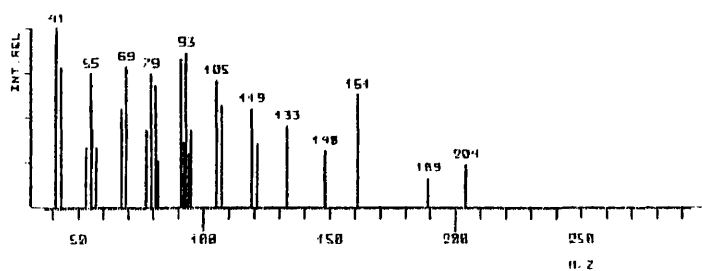
m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	83.6	81	27.4	121	12.3
55	31.5	91	24.7	133	17.7
67	27.4	93	74.0	161	21.9
69	100.0	105	19.2	175	11.0
77	18.5	107	14.7	189	7.5
79	41.1	119	16.4	204	3.4



COMPUESTO N. 30

Figura 13

m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	100.0	81	63.6	119	54.9
43	78.4	82	26.5	121	25.3
53	33.3	91	32.4	133	45.1
55	74.5	92	36.3	148	31.4
57	33.3	93	86.3	161	62.7
67	54.9	95	29.4	189	15.7
69	73.4	95	43.1	204	23.5
77	43.1	105	70.6		
79	74.5	107	56.9		

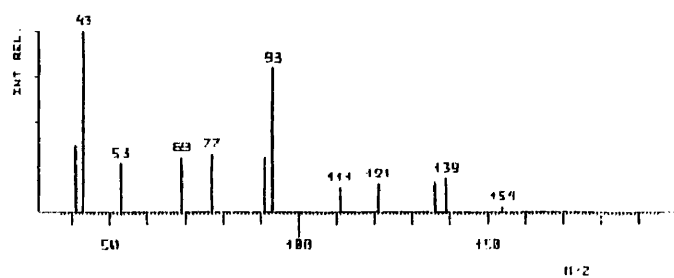


COMPUESTO N. 35

Figura 14

115.

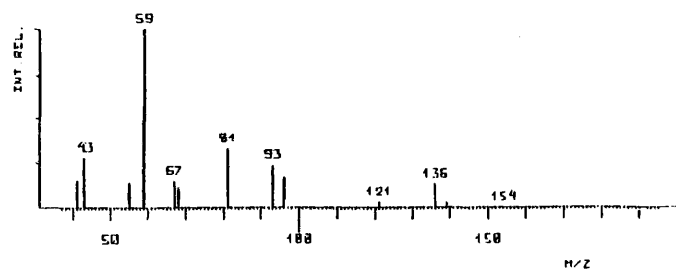
m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	16.7	77	31.7	121	15.0
43	100.0	91	30.0	136	16.7
53	26.7	93	50.0	139	19.3
69	30.0	111	13.3	154	2.7



COMPUESTO N.36

Figura 15

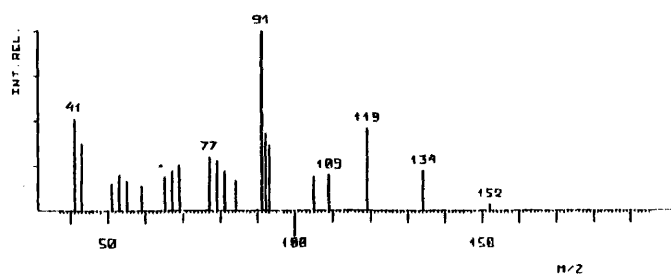
m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	16.7	60	19.8	136	12.7
43	27.5	81	32.4	139	2.9
53	13.7	93	23.5	154	0.0
59	100.0	96	16.7		
67	14.7	121	2.1		



COMPUESTO N.39

Figura 16

m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	51.1	67	21.8	97	42.6
43	37.6	69	25.2	98	36.6
51	14.9	77	29.7	105	18.8
53	19.8	79	27.7	108	19.8
55	16.3	81	21.8	119	43.5
59	12.3	84	16.8	134	22.3
65	19.8	91	100.0	152	7.5



COMPUESTO 11.40

Figura 17

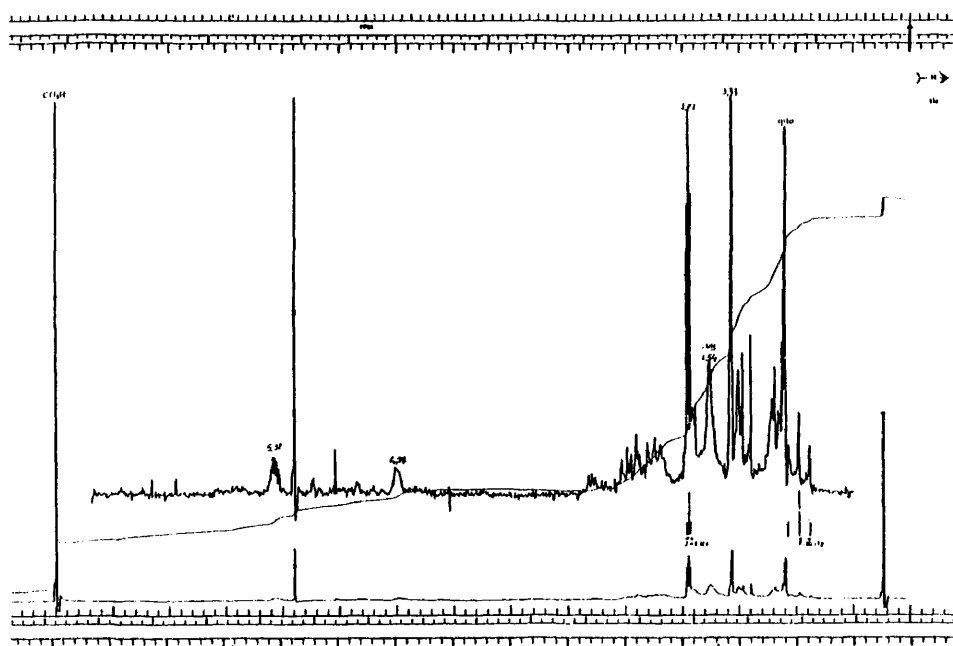
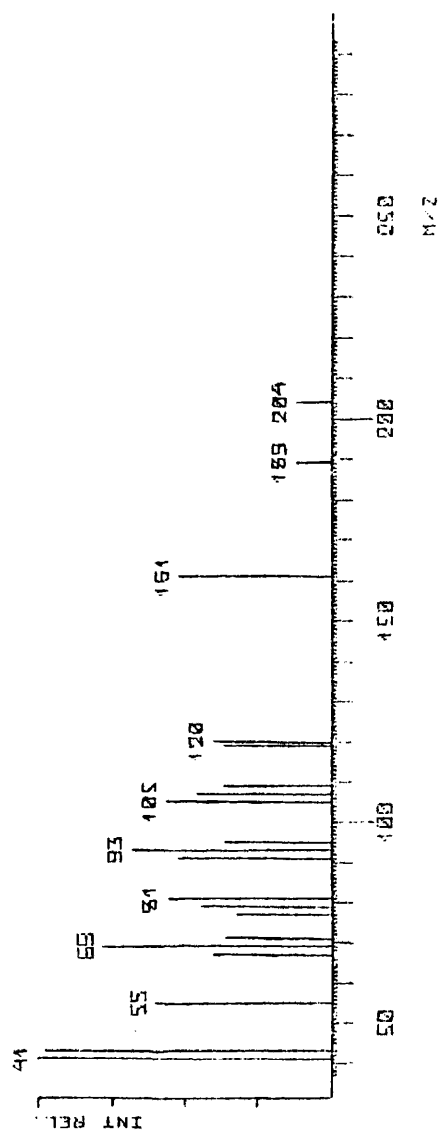


Figura 18

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	100.0	79	44.0	103	36.0
43	36.0	81	56.0	113	36.0
55	60.0	91	52.0	120	40.0
67	40.0	93	68.0	161	52.0
69	78.0	95	33.0	189	12.0
71	36.0	105	55.0	204	12.0
77	32.0	107	46.0		



COMPUESTO N.43

Figura 19

118.

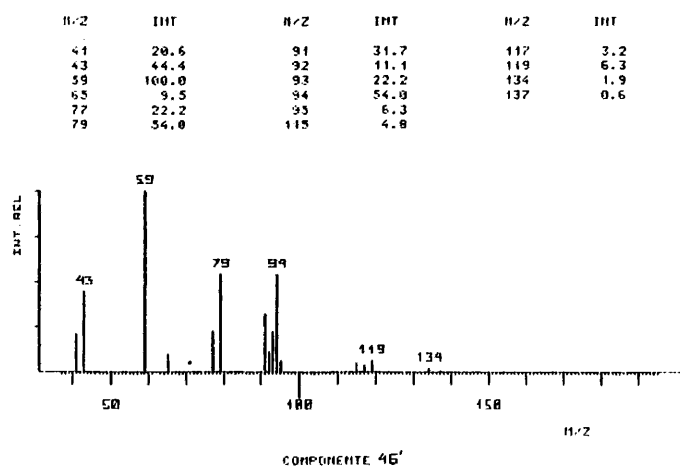


Figura 20

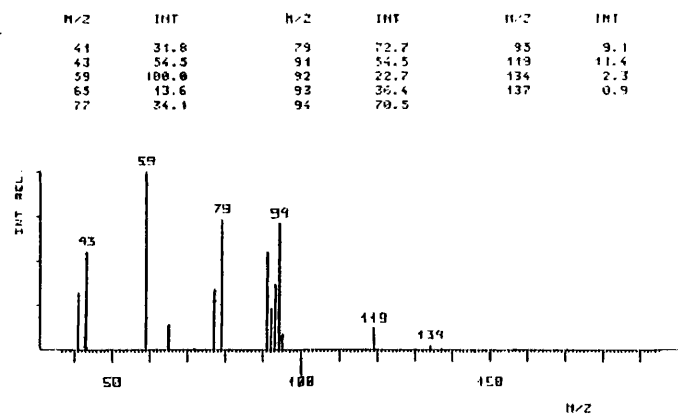


Figura 21

119.

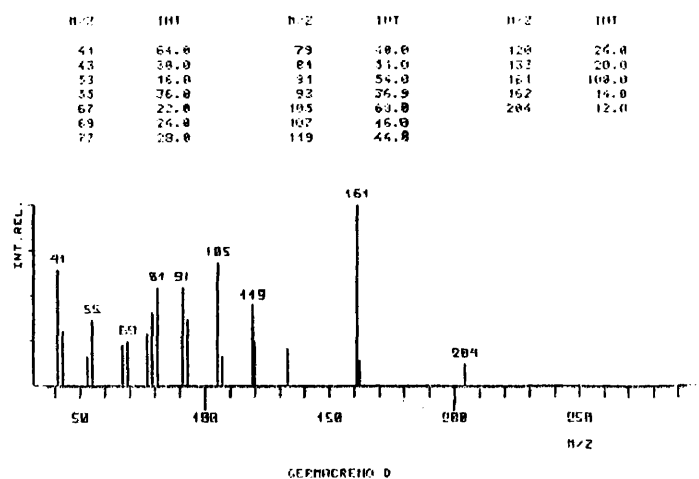


Figura 22

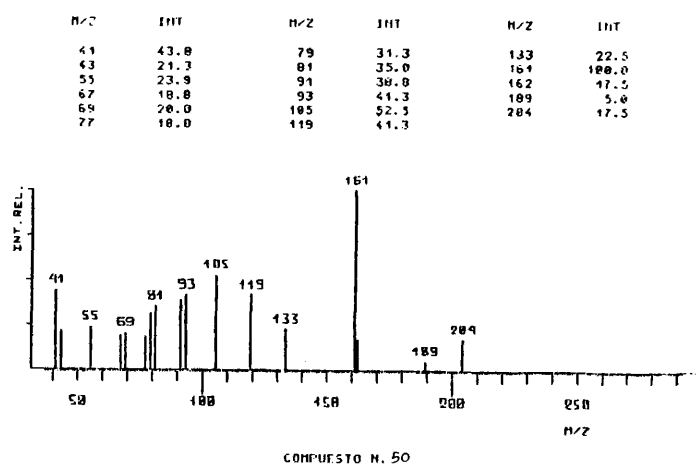


Figura 23

120.

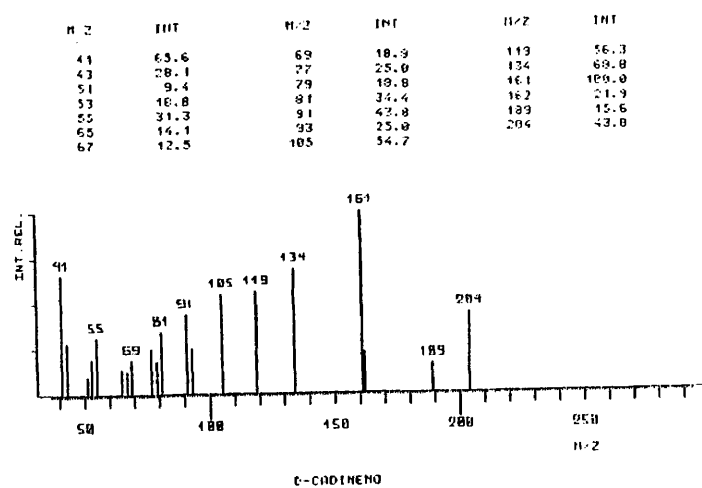


Figura 24

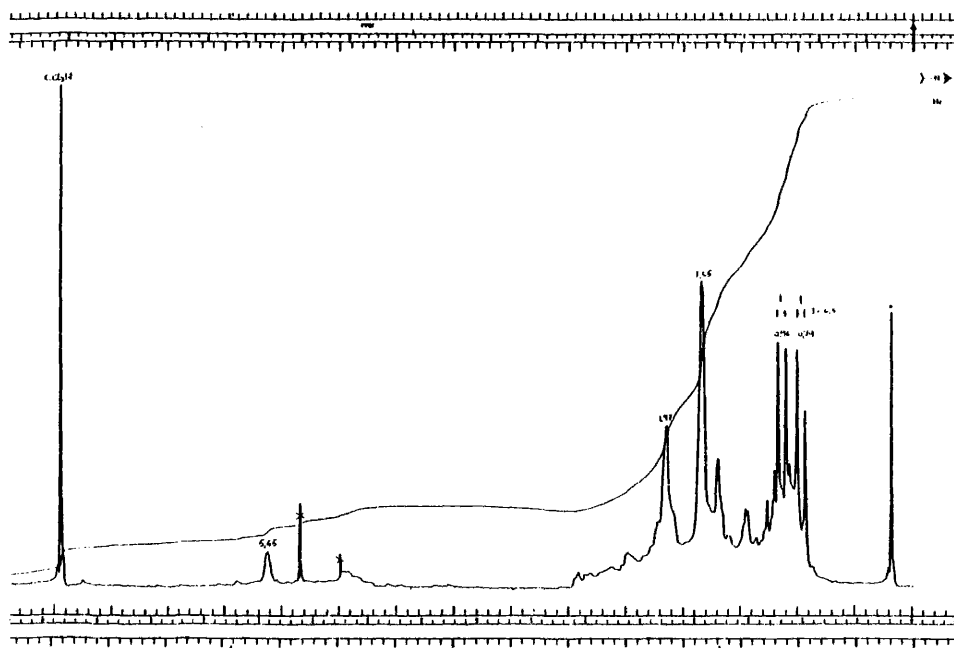
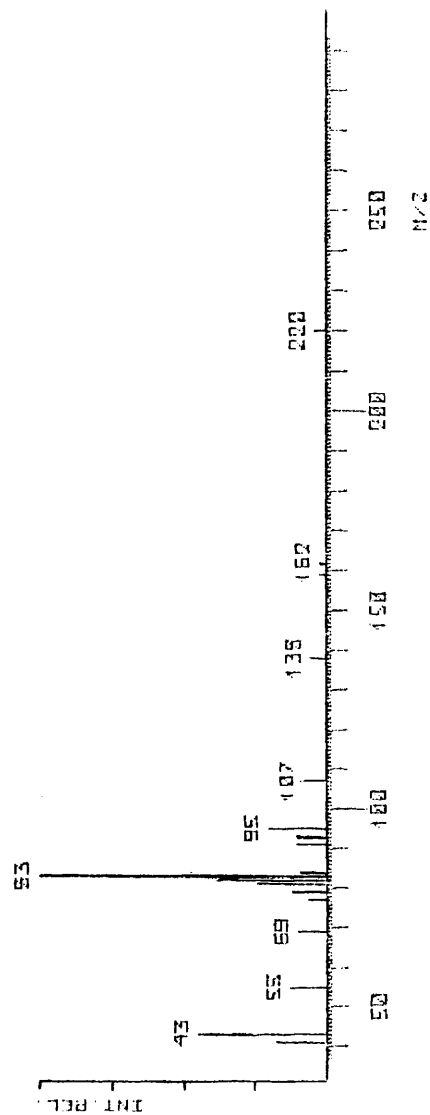


Figura 25

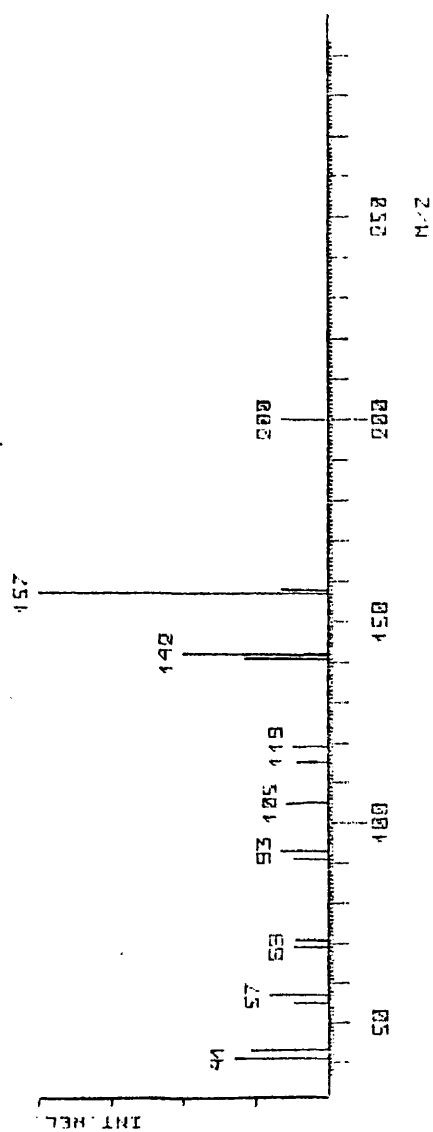
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	17.3	81	24.0	95	20.2
43	43.3	92	38.5	107	7.7
55	12.5	93	100.0	138	5.2
69	9.6	94	8.7	159	1.7
77	5.8	91	10.6	162	1.8
79	11.5	93	10.6	220	3.8



COMPUESTO N. 56

Figura 26

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	32.0	91	12.0	142	50.0
43	26.0	93	16.0	157	100.0
55	12.0	105	14.0	158	16.0
57	20.0	115	16.0	200	16.0
69	12.0	119	12.0		
71	10.3	141	28.0		

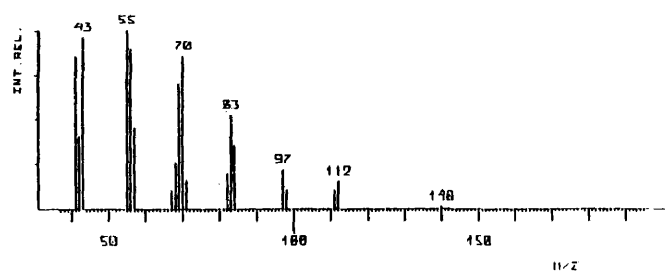


CALANENED-H2

Figura 27

123.

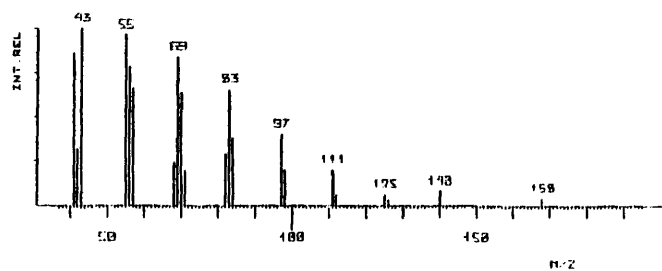
H/Z	INT	H/Z	INT	H/Z	INT
41	35.1	60	25.5	97	21.3
42	10.4	69	70.2	99	10.6
43	95.7	70	85.1	111	10.6
55	100.0	71	16.0	112	14.9
56	99.4	82	19.1	140	1.1
57	44.7	83	52.1		
67	10.6	84	35.1		



COMPUESTO N. 60'

Figura 28

H/Z	INT	H/Z	INT	H/Z	INT
41	86.0	69	94.0	99	20.0
42	32.0	70	64.0	111	20.0
43	100.0	71	20.0	112	6.0
55	96.0	82	30.0	125	6.0
56	79.0	83	66.0	126	3.2
57	66.0	84	30.0	140	8.0
60	24.0	97	40.0	160	4.0

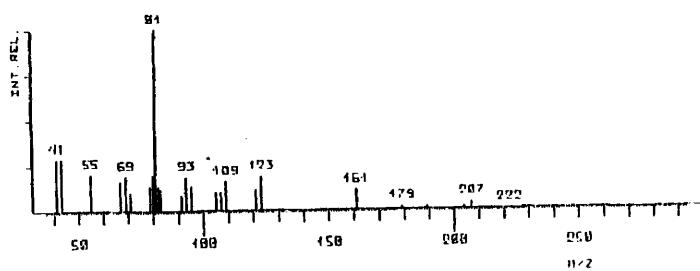


COMPUESTO N. 61'

Figura 29

124.

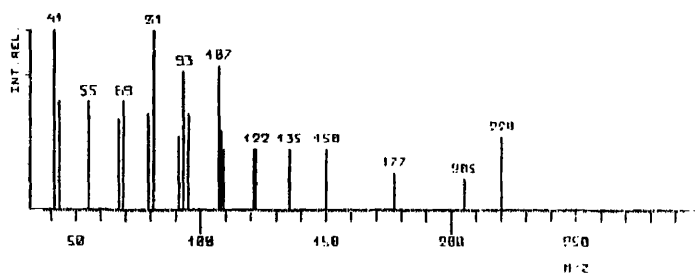
m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	28.7	82	13.3	123	12.7
43	28.0	93	12.0	161	10.7
55	20.0	91	8.0	173	1.3
67	16.0	93	18.7	199	1.3
69	19.7	95	13.3	204	1.3
71	9.3	105	3.3	207	3.3
79	13.3	107	3.3	222	0.1
80	20.0	109	16.0		
91	100.0	121	10.7		



COMPUESTO N. 61

Figura 30

m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	100.0	91	40.0	172	33.3
43	60.0	93	76.7	175	33.3
55	60.0	95	53.3	199	33.3
67	10.0	107	60.0	177	20.0
69	60.0	108	43.3	205	16.7
79	53.3	109	33.3	220	40.0
91	100.0	121	33.3		

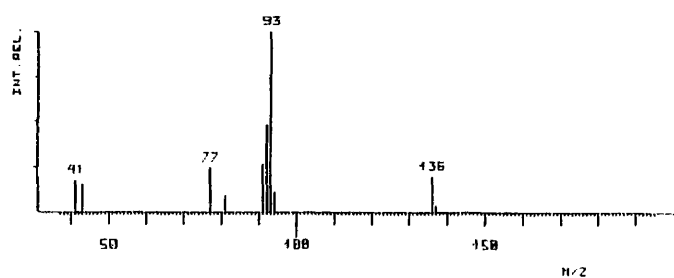


COMPUESTO N. 62

Figura 31

125.

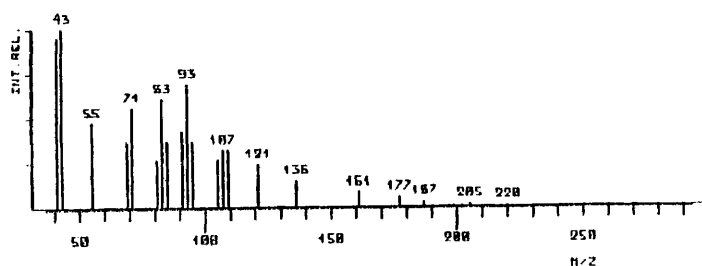
m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	17.4	91	26.1	136	19.6
43	11.2	92	47.9	137	3.3
77	23.9	93	100.0		
81	6.7	94	10.9		



COMPONENTE 62'

Figura 32

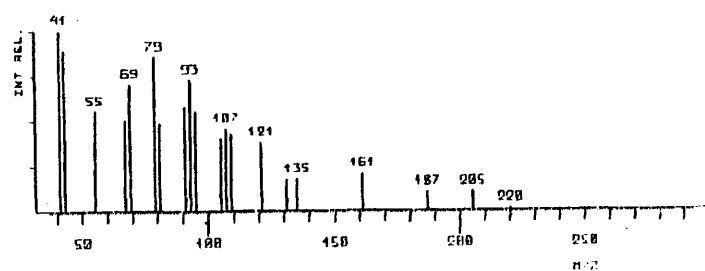
m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	94.7	91	42.1	161	7.9
43	100.0	93	68.4	177	5.3
55	47.4	95	36.8	187	2.6
69	36.8	105	26.3	202	0.5
71	55.3	107	31.6	205	1.6
81	26.3	109	31.6	220	0.5
83	60.5	121	23.7		
85	36.8	136	14.7		



COMUESTO N. 64

Figura 33

m/z	int	m/z	int	m/z	int
41	100.0	91	37.5	131	17.5
43	90.0	93	72.5	135	17.5
55	55.0	95	55.9	161	29.0
67	50.0	105	40.0	187	10.0
69	70.0	107	45.0	205	10.0
79	85.0	109	42.5	220	1.0
81	47.5	121	37.5		



OX. CARIOFILENO

Figura 34

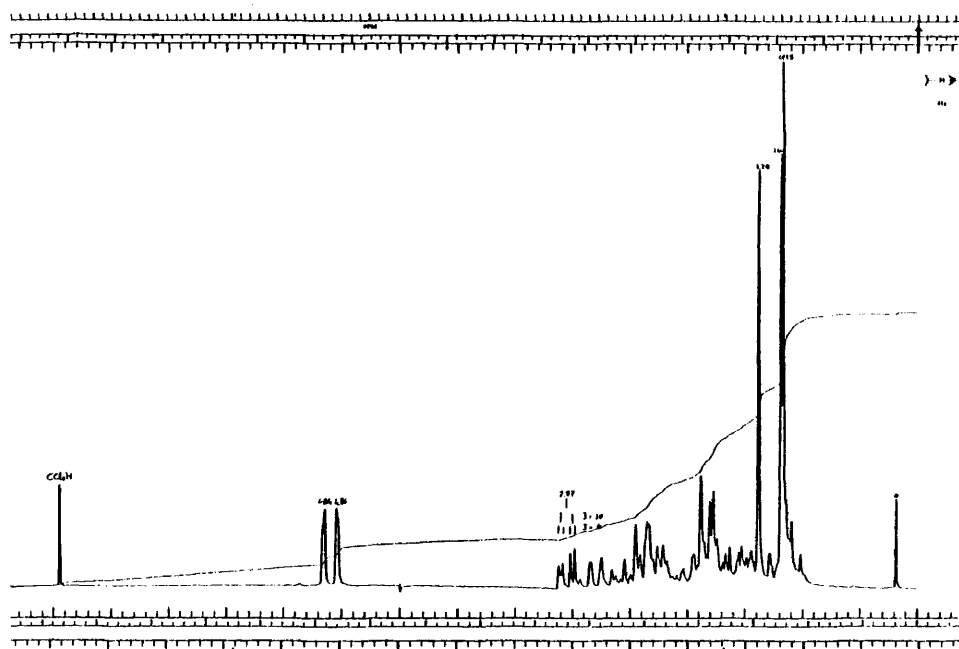
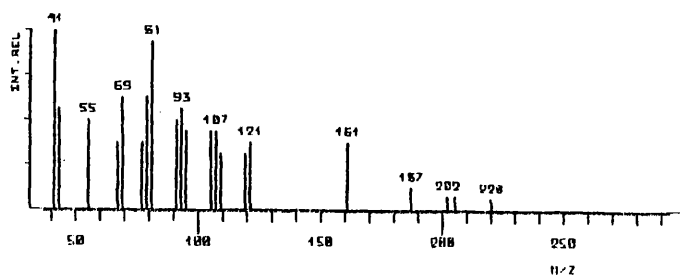


Figura 35

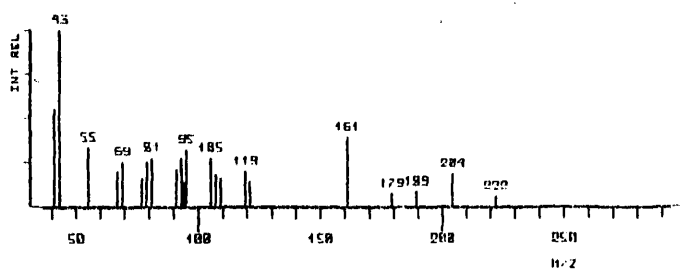
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	100.0	81	93.8	119	31.3
43	56.3	91	58.0	121	37.5
55	50.0	93	56.3	161	37.5
67	37.5	95	43.0	187	12.5
69	62.5	105	43.0	202	7.5
77	37.5	107	43.0	204	7.5
79	62.5	109	31.3	220	6.3



COMPUESTO N.65'

Figura 36

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	54.5	91	28.5	121	13.6
43	100.0	93	27.3	161	39.6
55	33.0	94	13.6	179	6.0
67	15.3	95	31.8	189	8.0
69	25.0	105	27.3	204	18.2
77	15.9	107	16.2	222	5.7
79	25.0	109	15.9		
81	27.3	119	19.3		



COMPUESTO N.65''

Figura 37

128.

m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	37.5	71	13.9	121	52.8
43	38.6	77	11.1	175	5.6
55	27.8	91	13.9	198	11.1
69	100.0	105	19.4		

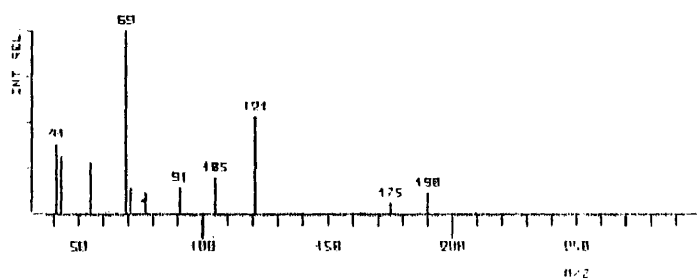


Figura 38

m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	49.5	77	21.6	119	26.9
43	100.0	79	23.7	142	14.0
45	19.4	91	39.7	159	32.3
55	19.3	93	25.9	174	5.4
69	23.7	105	32.3	177	2.2
		107	25.8	192	4.3

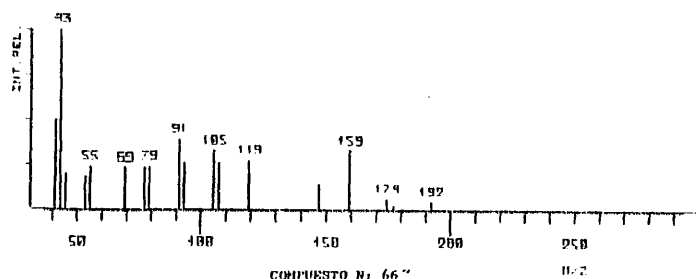
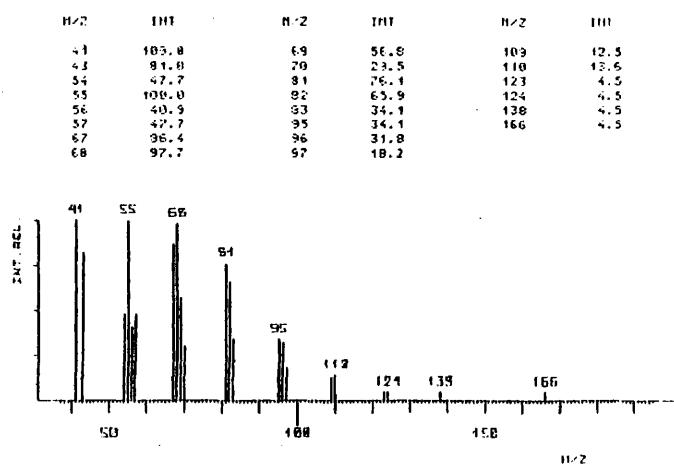


Figura 39



COMUESTO 11.67

Figura 40

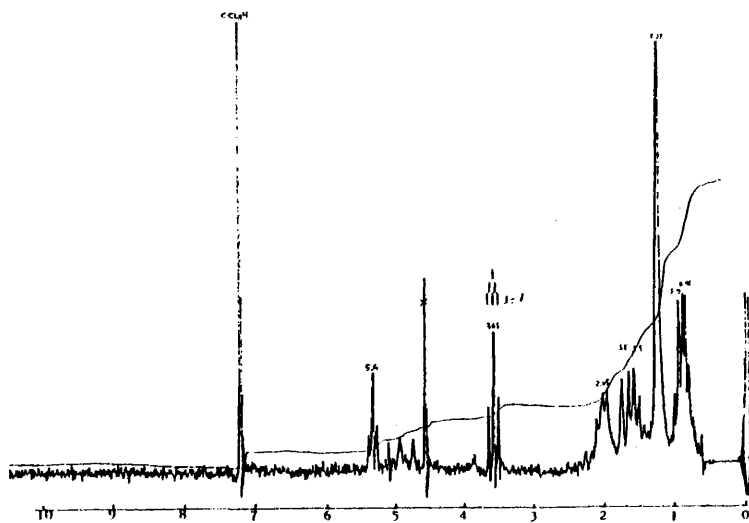


Figura 41

130.

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
53	20.0	83	31.7	123	30.0
55	60.0	84	26.7	136	26.7
67	26.7	91	23.3	161	20.0
69	43.3	93	60.0	179	5.0
71	23.3	95	36.7	189	5.0
79	30.0	105	23.3	204	1.7
81	100.0	107	26.7	207	2.3
		109	46.7	222	2.3
		121	43.3		

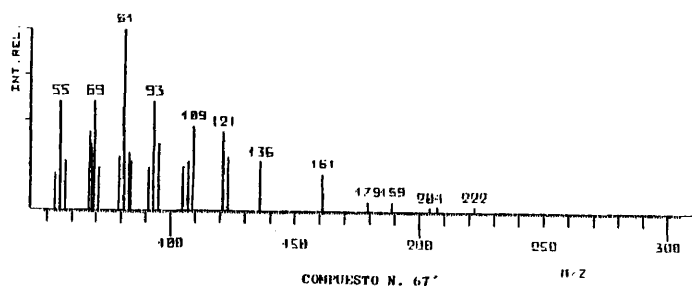


Figura 42

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	77.0	69	59.3	109	11.1
43	55.6	70	24.1	110	9.3
54	31.3	91	48.1	123	3.7
55	100.0	92	40.1	124	3.3
56	40.7	93	29.6	138	2.6
57	37.0	95	22.2	166	3.0
67	30.0	96	20.4		
68	63.0	97	14.8		

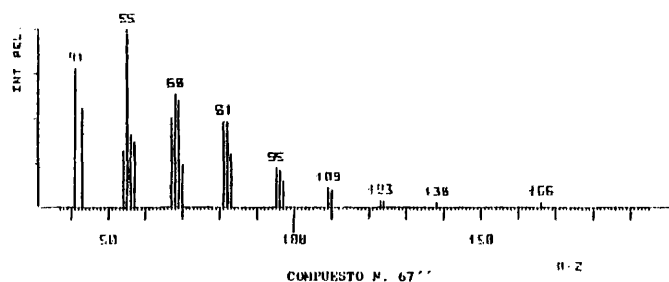
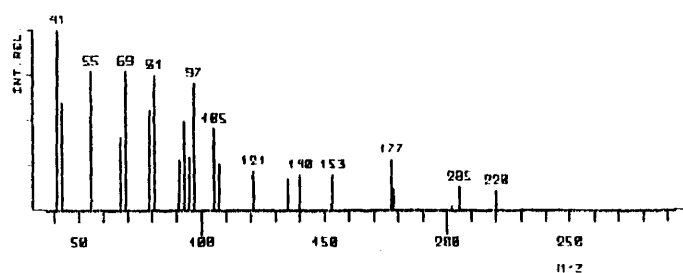


Figura 43

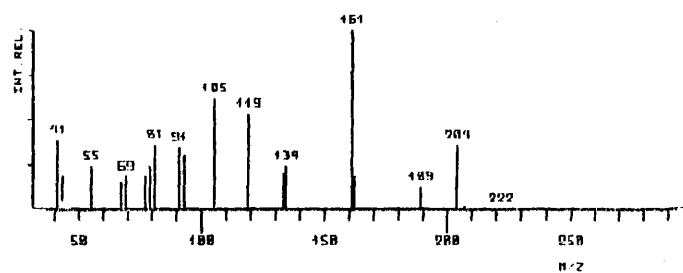
m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	100.0	93	48.9	133	19.1
43	59.6	95	29.8	177	27.7
55	76.6	107	25.5	205	12.8
69	40.4	121	21.2	220	10.6
81	74.5	135	17.8		
91	27.7	140	19.1		



COMPUUESTO N. 68

Figura 44

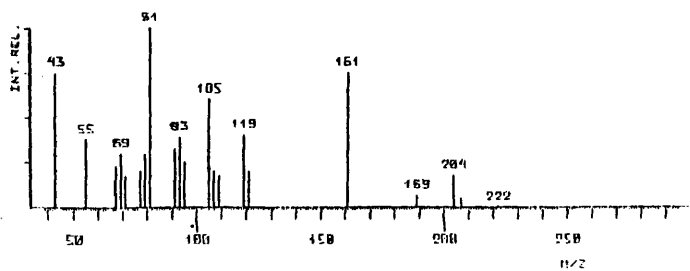
m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	38.2	81	35.3	161	100.0
43	17.6	91	33.8	162	17.6
55	23.3	93	29.4	199	11.8
69	14.7	105	61.8	204	35.3
77	17.6	119	32.3	207	1.5
79	23.5	134	23.5	222	0.8



COMPUUESTO N. 69

Figura 45

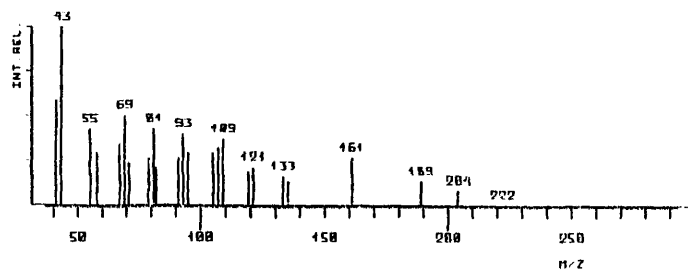
m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
43	25.0	81	100.0	119	50.0
55	37.5	91	32.5	121	20.0
67	22.5	93	30.0	161	75.0
69	30.0	95	25.0	189	5.3
71	17.5	105	60.0	204	17.5
77	20.0	107	20.0	207	5.0
79	30.0	109	17.5	222	0.0



COMUESTO N. 70

Figura 46

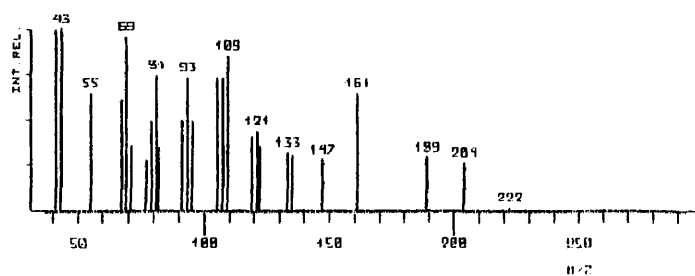
m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	57.9	82	21.1	133	15.0
43	100.0	91	26.3	135	13.2
55	42.1	93	39.5	161	20.3
59	20.9	95	20.9	189	13.2
67	34.2	105	28.9	204	7.9
69	50.0	107	31.6	207	0.01
71	23.7	109	36.0	222	0.01
79	26.3	119	18.4		
81	42.1	121	21.1		



COMUESTO N. 73

Figura 47

m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	100.0	82	34.9	122	35.6
43	100.0	91	50.7	133	31.5
55	64.4	93	72.6	135	30.1
67	60.3	95	49.3	147	27.4
69	95.9	105	72.6	161	64.4
71	35.6	107	72.6	189	28.8
77	27.4	109	84.9	204	25.0
79	43.3	119	41.1	222	1.4
81	74.0	121	43.8		



COMUESTO N.74

Figura 48

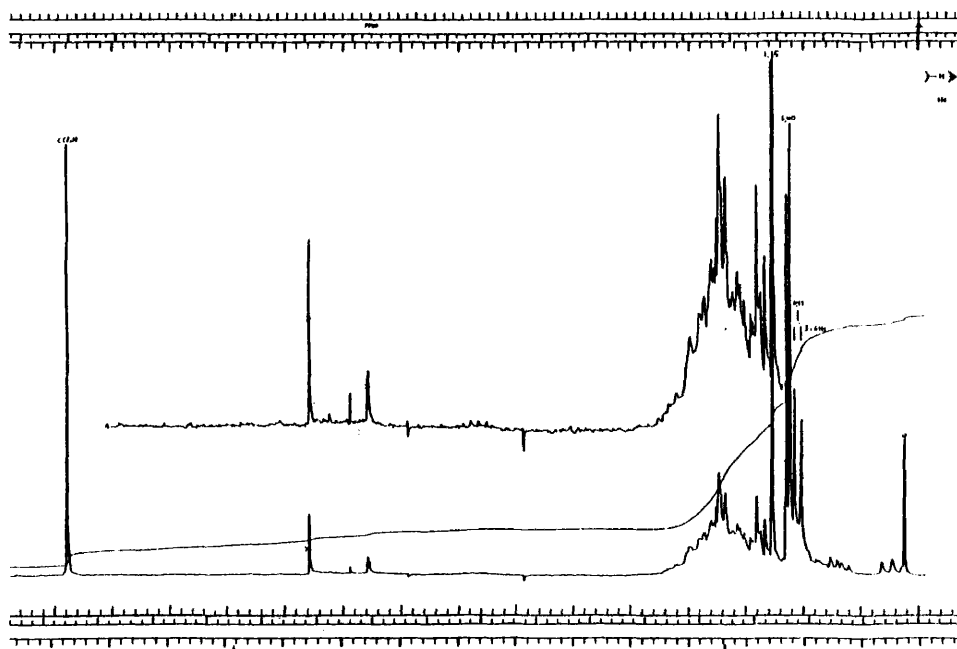
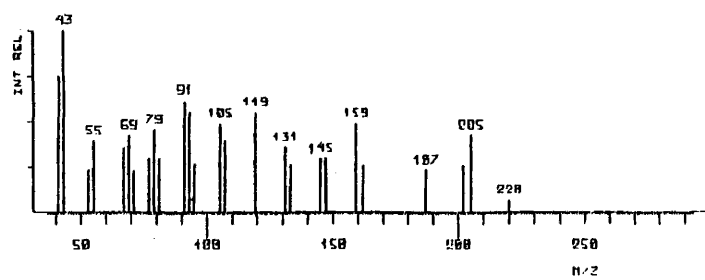


Figura 49

m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	74.2	81	29.0	145	29.0
43	100.0	91	61.3	147	29.0
53	22.6	93	54.8	159	48.4
55	30.7	95	25.0	167	25.0
67	33.3	105	40.4	187	22.6
69	41.3	107	30.7	202	25.0
71	22.6	119	54.8	205	41.9
77	29.0	131	35.5	220	6.3
79	43.2	133	25.0		



COMUESTO N.76

Figura 50

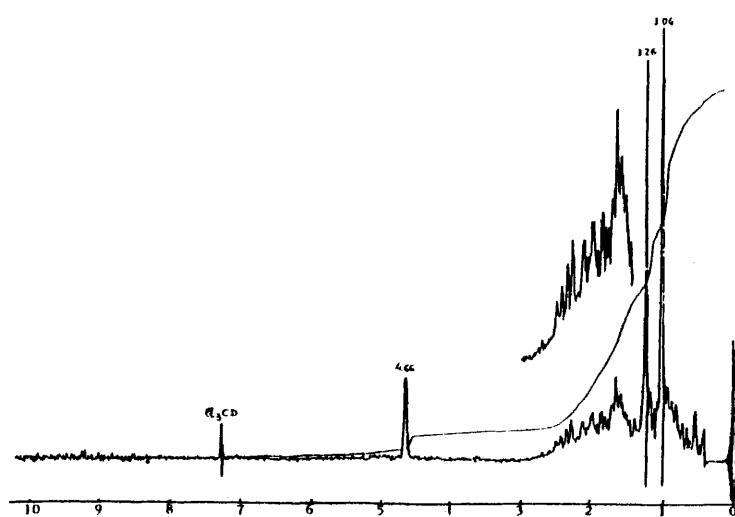
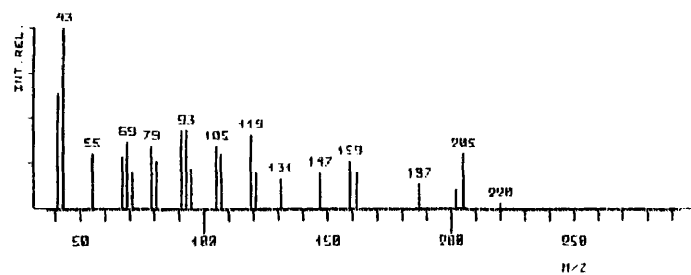


Figura 51

135.

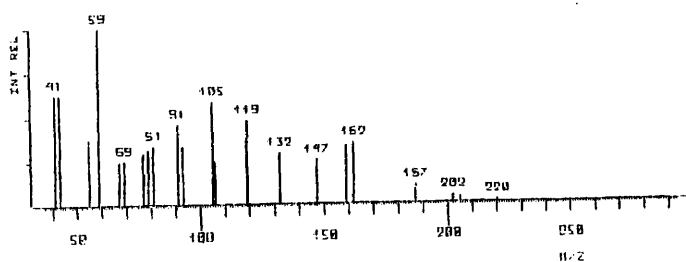
m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	63.8	91	22.6	147	19.1
43	100.0	93	42.6	159	35.5
55	29.8	95	21.3	162	19.1
67	27.7	105	24.0	187	12.8
69	36.2	107	29.8	202	10.6
71	19.1	119	50.4	205	29.8
79	34.0	121	19.1	220	2.8
81	25.5	131	16.0		



COMPUESTO N.77

Figura 52

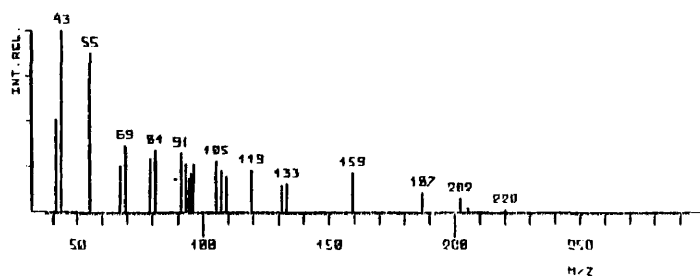
m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	62.5	81	33.3	159	33.3
43	62.5	91	45.8	162	34.6
55	37.5	93	33.3	187	10.4
59	100.0	105	58.3	202	4.2
67	24.2	106	25.0	205	2.9
69	25.0	119	47.9	220	1.2
77	29.2	132	29.2		
79	31.2	147	25.0		



COMPUESTO N.78

Figura 53

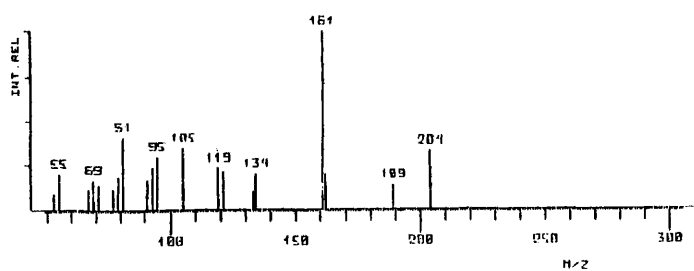
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	50.8	93	26.2	131	14.6
43	100.0	94	10.5	133	15.4
55	87.7	95	21.5	159	21.5
67	25.4	96	26.2	187	10.0
69	36.9	105	27.7	202	7.7
79	29.2	107	23.4	205	2.2
81	33.0	109	19.2	220	1.5
91	32.3	119	23.1		



COMUESTO N. 80

Figura 54

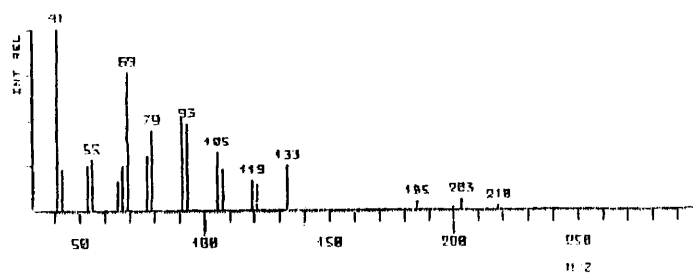
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
53	8.1	91	40.3	133	9.7
55	19.4	93	15.1	151	19.4
67	11.3	95	22.6	161	100.0
69	16.1	96	29.0	162	19.4
71	12.9	105	33.9	189	12.9
77	11.3	119	22.6	204	32.3
79	17.7	121	21.0		



T-CADINOL

Figura 55

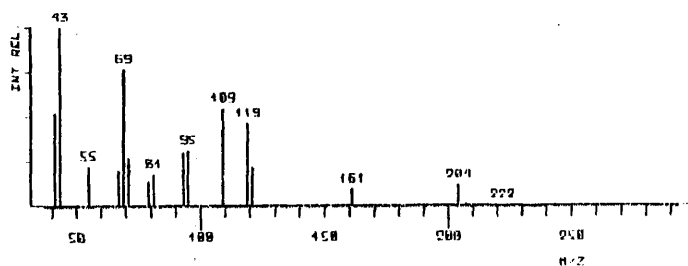
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	100.0	77	30.0	121	14.0
43	22.0	79	44.0	133	24.0
53	24.0	91	52.0	185	4.0
55	20.0	93	49.0	200	1.2
65	16.0	105	32.0	203	5.6
67	24.0	107	22.0	210	2.0
69	76.0	119	16.0		



COMPONENTE 88.77

Figura 56

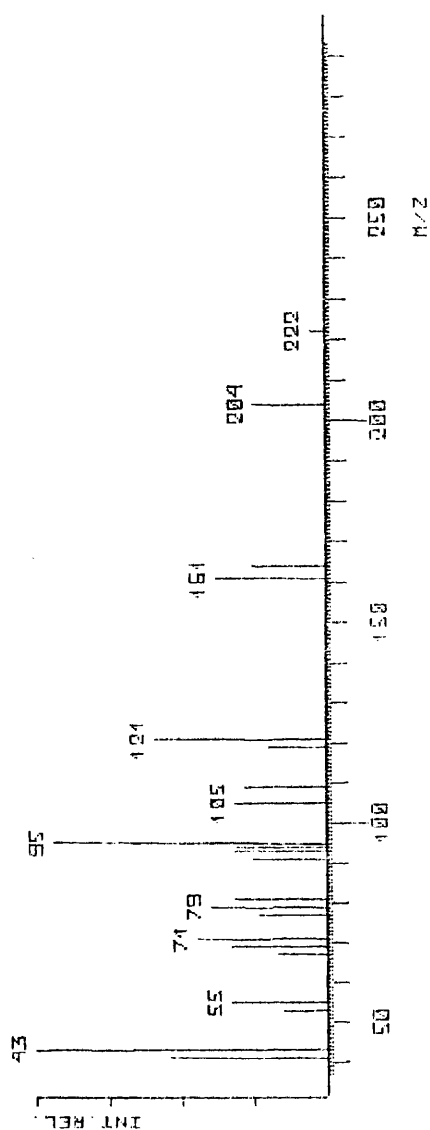
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	52.2	79	13.0	121	21.7
43	100.0	81	17.4	161	9.7
55	21.7	93	29.3	204	19.9
67	19.6	95	30.4	207	0.7
69	76.1	109	54.3	222	0.04
71	26.1	119	45.7		



COMPUESTO N.85

Figura 57

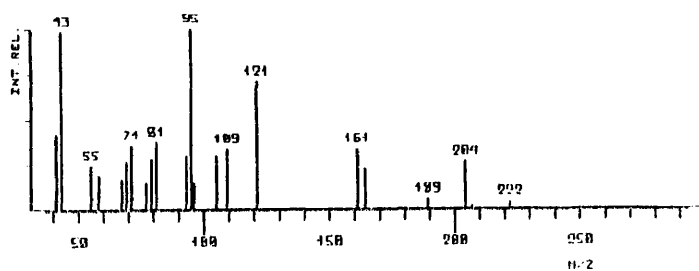
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	54.1	73	39.3	119	13.7
43	100.0	81	31.1	121	53.6
53	17.0	91	24.6	161	37.7
55	32.8	93	31.1	164	29.3
67	15.4	94	30.3	204	24.8
69	32.3	95	33.4	222	4.8
71	44.3	105	31.1		
77	23.0	109	27.9		



COMPONENTE N-83

Figura 58

m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	40.7	79	27.6	161	33.3
43	98.1	81	37.0	164	22.2
55	24.1	93	29.5	190	5.2
58	19.5	95	100.0	204	25.9
67	16.7	96	14.3	207	1.5
69	25.9	105	29.6	222	3.7
71	35.2	109	33.3		
77	14.8	121	70.4		



CONFUESTO N.86

Figura 59

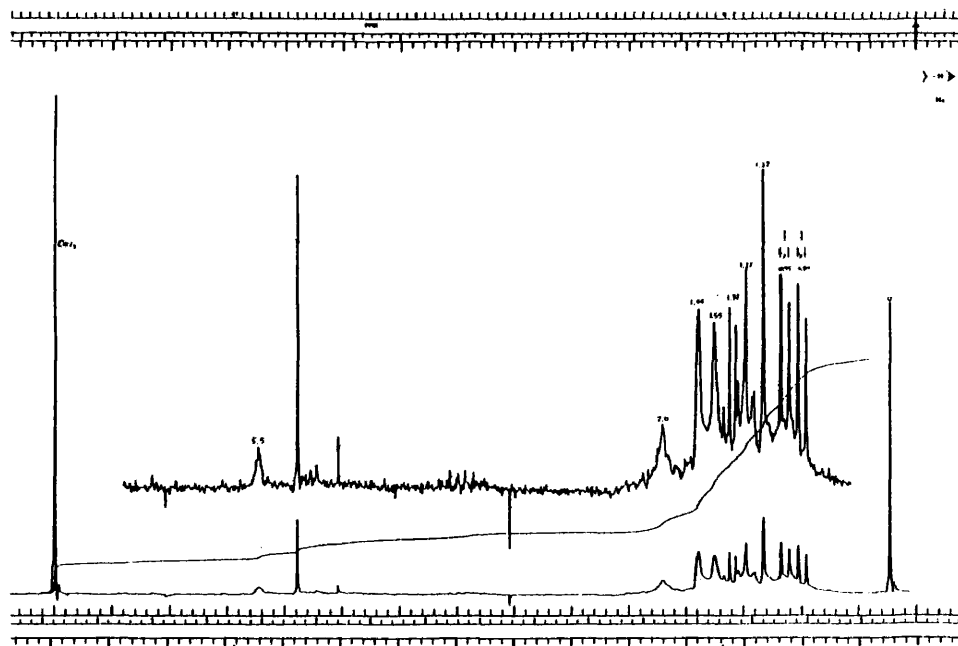
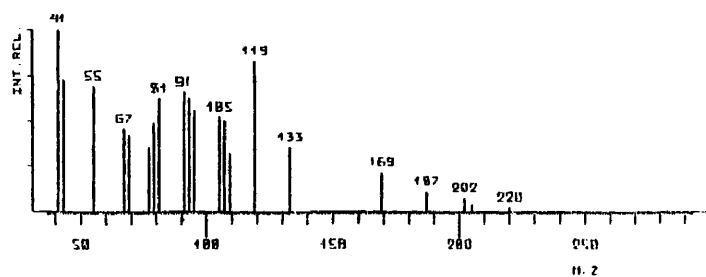


Figura 60

140.

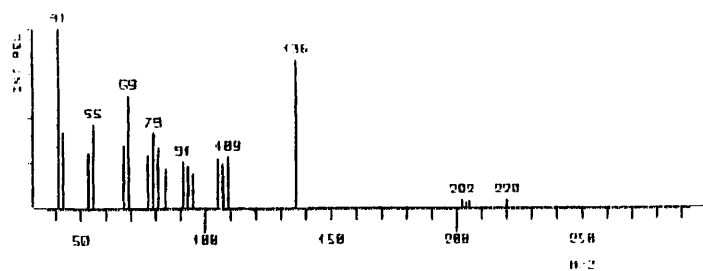
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	100.0	81	52.1	113	82.8
43	72.4	91	65.5	133	34.5
55	69.0	93	62.1	159	28.2
67	44.8	95	55.2	187	10.3
69	41.4	105	51.7	202	6.9
77	34.5	107	50.0	203	3.4
79	48.3	109	31.0	220	1.7



COMPUESTO N. 87

Figura 61

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	100.0	79	41.3	107	24.8
43	41.3	81	33.3	109	28.8
53	30.7	84	21.3	136	82.7
55	46.7	91	24.3	202	4.8
67	34.7	93	22.7	204	2.7
69	62.7	95	19.7	203	3.3
77	29.3	105	26.7	220	4.8

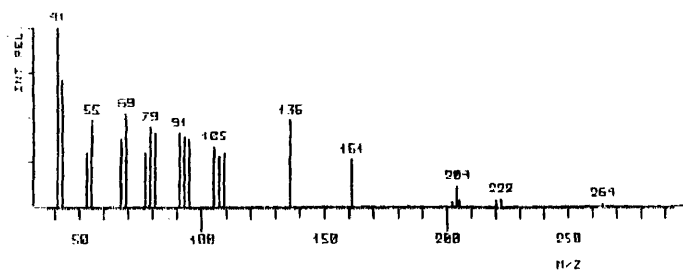


COMPUESTO N. 87'

Figura 62

141.

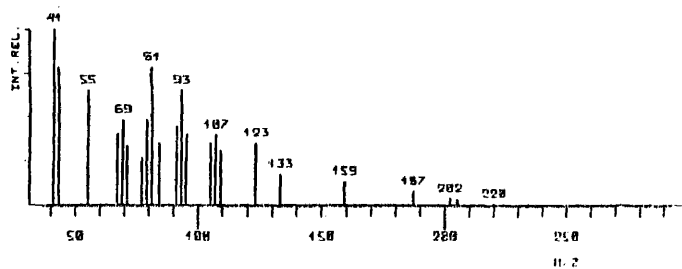
m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	100.0	81	40.7	161	25.9
43	70.4	91	40.7	202	2.6
53	29.6	93	30.9	204	11.1
55	48.1	95	37.0	205	3.7
67	37.0	105	33.3	220	3.7
69	51.9	107	27.8	222	4.1
77	29.6	109	29.6	264	1.1
79	44.4	136	40.1		



COMPUESTO N. 87**

Figura 63

m/z	INT	m/z	INT	m/z	INT
41	100.0	91	78.3	123	34.0
43	70.3	93	34.8	131	12.4
55	65.2	95	43.5	159	13.0
67	39.1	97	65.2	187	7.9
69	47.8	99	39.1	202	3.5
71	32.5	105	34.6	205	2.6
77	26.1	107	39.1	220	0.9
79	47.8	109	30.4		

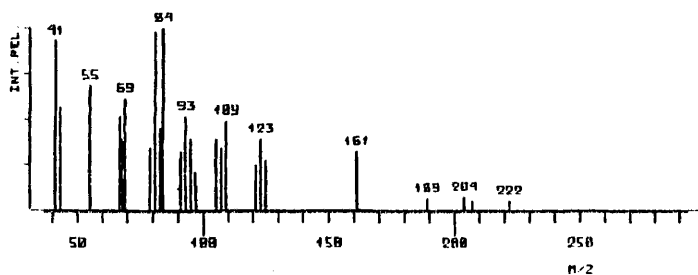


COMPUESTO N. 88

Figura 64

142.

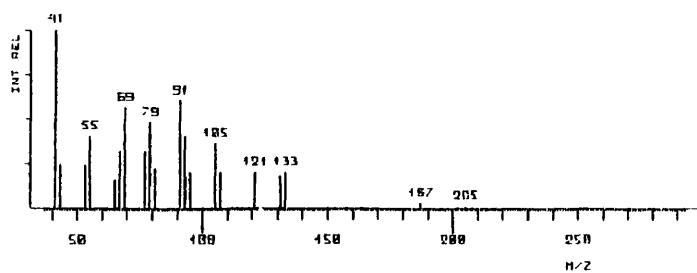
M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	92.7	84	100.0	123	39.0
43	55.1	91	31.7	125	26.0
55	60.3	93	51.2	161	31.7
67	51.2	95	39.9	189	6.1
68	39.0	97	20.7	204	7.1
69	61.0	105	39.0	207	4.9
79	34.1	107	34.1	222	4.9
81	97.6	109	46.8		
83	45.1	121	24.4		



COMPUESTO N. 89

Figura 65

M/Z	INT	M/Z	INT	M/Z	INT
41	100.0	77	32.0	107	20.0
43	24.0	79	48.0	121	20.0
53	24.0	81	22.0	131	18.0
55	40.0	91	60.0	133	20.0
65	16.0	93	40.0	187	2.8
67	32.0	95	20.0	203	0.8
69	56.0	105	36.0	205	1.2



COMPONENTE 90

Figura 66

173

APENDICE II

APENDICE II

TABLA III

	5S1	9S1	5S2	8S2	7S3	8S3/1	8S3/2	8S3/3	8S3/4	8S3/5	8S3/6	9S3/7	9S3/8	9S3/9	9S3/10	9S3/11	9S3/12	8S5
α -Pinoeno	18,7	8,2	23,6	25,8	18,6	42,4	14,5	42,9	0,4	31,7	7,5	30,8	43,3	49,0	28,7	29,5	35,6	0,4
Canfeno	1,1	0,7	0,4	0,4	0,2	0,3	0,4	0,3	-	0,2	0,3	-	-	t	t	-	-	t
β -Pinoeno	1,5	0,4	1,2	1,0	1,8	2,2	1,9	2,1	t	2,0	0,8	4,6	4,2	4,0	1,8	3,5	2,1	0,3
Sabineno	6,3	2,0	10,4	7,2	0,2	4,6	3,5	4,7	0,4	4,4	1,3	7,8	8,5	6,3	4,1	5,2	5,8	0,4
Δ -3-Careno	t	-	t	t	0,1	t	1,6	0,4	-	t	t	-	0,2	2,0	t	t	-	t
Mirceno	0,7	0,7	0,9	0,8	0,2	0,3	1,0	0,3	0,4	0,6	0,9	0,7	1,2	-	0,4	0,3	0,4	1,7
α -Felandreno	t	0,8	0,1	0,1	0,3	5,5	3,5	1,0	0,6	6,3	1,1	5,6	4,4	4,0	11,2	1,5	0,5	t
α -Terpineno	t	0,6	0,2	0,8	0,7	0,2	0,4	0,4	t	0,2	0,8	0,3	0,8	0,4	0,3	-	0,5	-
Limoneno	3,4	12,7	5,5	4,7	2,5	2,5	4,6	2,3	0,9	3,2	0,7	5,4	3,3	4,0	3,7	3,1	2,3	0,8
β -Felandreno	0,1	0,6	t	t	-	8,0	6,2	2,3	-	-	0,7	10,9	6,0	5,8	25,6	7,3	1,5	0,7
1,8-Cineol	13,4	1,4	5,8	6,5	8,9	7,1	6,1	5,4	3,0	20,6	3,5	5,0	5,6	4,0	1,0	-	5,3	1,6
2-Pentilfurano	0,1	-	-	t	-	0,4	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	0,4
γ -Terpineno	t	1,4	0,4	1,4	2,4	0,5	1,4	0,7	0,4	0,5	0,4	1,0	2,3	1,0	0,5	1,4	1,0	0,3
p-Cimeno	6,5	1,1	2,7	0,4	6,0	0,9	3,4	2,1	1,6	2,4	0,6	1,1	2,7	1,5	1,0	4,1	2,1	0,5
Terpinoleno	t	0,7	0,3	0,4	0,6	0,1	0,1	t	-	0,1	t	0,3	0,2	0,3	0,1	0,3	-	0,1
1-Hexanol	0,3	-	-	0,2	-	0,1	0,1	-	-	-	0,2	-	-	-	-	0,3	-	0,2
Hexenol	-	-	-	t	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-
Fenchona	11,9	25,3	6,2	10,2	0,2	0,1	2,8	0,1	0,8	1,5	2,4	1,5	0,2	0,3	t	1,3	1,3	2,6

	SS1	9S1	5S2	8S2	7S3	8S3/1	8S3/2	8S3/3	8S3/4	8S3/5	8S3/6	9S3/7	9S3/8	9S3/9	9S3/10	9S3/11	9S3/12	8S5
1-Octen-3-ol	-	-	-	0,4	-	t	t	-	-	-	1,4	-	-	0,3	0,2	-	-	-
trans-Tuynanol	-	-	-	-	-	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetato de fenchilo	12,0	27,7	0,8	0,8	-	0,3	6,5	0,1	-	-	-	1,1	0,3	0,5	0,3	4,3	3,4	0,4
α-Copaeno	-	-	0,7	0,4	2,6	1,1	1,5	1,1	3,4	1,1	1,4	1,0	0,7	1,2	0,4	1,5	1,5	0,5
Alcanfor	1,7	-	0,7	0,9	0,5	0,5	1,4	t	-	0,3	t	0,2	-	0,5	-	-	-	-
β-Bourboneno	1,2	1,3	1,4	0,9	6,4	1,4	4,5	3,1	6,5	2,2	1,6	2,1	0,8	1,8	0,9	3,2	3,1	1,7
Linalol	0,4	-	0,8	0,4	0,5	0,4	0,9	0,5	1,9	0,7	-	-	-	-	-	-	-	1,3
cis-Tuynanol	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pinocarvona	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-
1-Octanol	-	-	-	-	-	-	0,7	-	-	-	0,9	-	-	0,5	-	-	-	-
iso-Octanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-
endo-Fenchol	1,2	2,2	0,7	4,0	0,7	0,4	1,6	1,3	1,5	-	-	0,5	0,1	0,4	0,2	1,4	0,5	0,4
Componente 30	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetato de bornilo	-	0,2	-	-	-	0,1	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-Terpeneol	6,3	3,2	5,4	1,4	6,4	1,4	3,5	2,0	1,3	1,6	0,7	2,0	1,5	1,1	0,9	6,2	0,6	0,6
Cariofileno	0,8	1,2	4,7	1,3	0,4	0,4	0,8	0,4	0,5	0,6	3,2	0,4	0,3	0,4	0,3	0,4	1,5	32,5
allo-Aromadendreno	0,7	0,1	0,5	-	0,5	0,2	0,3	0,5	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	0,4
Componente 35	0,7	-	0,6	0,4	0,6	0,2	0,3	0,3	0,6	-	0,6	-	-	-	-	-	-	0,4
Componente 36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
trans-Pinocarveol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	8S5	
	9S3/12	
	9S3/11	
	9S3/10	
	9S3/9	
	9S3/8	
	9S3/7	
	8S3/6	
	8S3/5	
	8S3/4	
	8S3/3	
	8S3/2	
	8S3/1	
	7S3	
	8S2	
	5S2	
	9S1	
	5S1	
Criptona	-	0,9
Componente 39	-	-
Componente 40	-	-
Limonen-4-ol	0,1	-
Piperitona	-	-
Componente 43	1,2	0,9
α -Terpineol	0,1	-
Isoborneol	-	0,8
Acetato de terpenilo	-	-
Componente 46'	-	-
Germacreno D	-	0,5
Nerol	-	-
Borneol	-	-
α -Muuroleno	0,2	-
γ -Cadineno	t	0,4
Carvona	-	0,4
δ -Cadineno	1,4	1,3
α -Curcumeno	0,7	1,2
Geraniol	-	-
Aldehído cumínico	-	-
1-Decanol	-	-

	5S1	9S1	5S2	8S2	7S3	8S3/1	8S3/2	8S3/3	8S3/4	8S3/5	8S3/6	9S3/7	9S3/8	9S3/9	9S3/10	9S3/11	9S3/12	8S5
Componente 74	-	-	-	-	1,5	0,4	0,6	0,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cuminol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Componente 76	1,3	-	2,6	-	1,4	0,6	0,6	1,1	3,4	-	3,5	-	-	-	0,2	-	-	1,4
Componente 77	0,2	-	-	-	1,2	0,2	0,4	0,4	1,6	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7
Componente 78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eugenol	-	-	-	-	0,6	0,3	1,6	0,4	1,1	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2
Componente 80	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8	-	-	-	-	-	-	-
T-cadinol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Componente 80''	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Timol	t	-	0,9	0,7	2,6	1,2	0,5	1,3	2,4	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6
Componente 82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,5	-	-	-	-	-	-	-
Cadinol (I)	0,7	-	2,2	1,5	1,4	0,5	0,8	0,5	1,5	-	3,2	-	-	-	-	-	1,6	-
Carvacrol	t	-	-	-	0,6	0,2	0,4	1,6	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Componente 85	-	-	2,0	1,4	-	1,5	-	-	3,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cadinol (II)	1,9	-	-	-	0,7	-	1,4	1,5	-	-	3,0	-	-	-	1,4	-	2,4	-
Componente 87	-	-	-	0,5	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Componente 87'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,2
Componente 88	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Componente 89	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Componente 90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

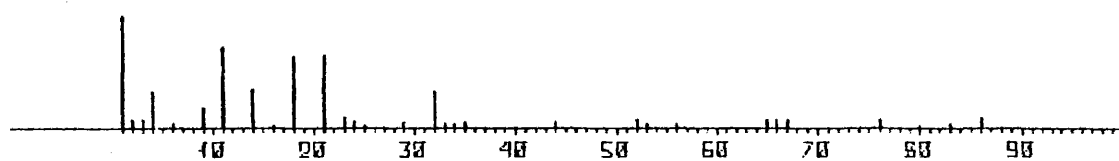
TABLA III (Continuación)

	S6	17,7	50,1	10,8	7,8	32,7	34,2	11,6	5,5	33,1	43,1	14,9	10,7	19,8	20,6	0,1	1,2	17,6	*	9S16
α -Pinenol	0,4	t	0,3	0,5	0,2	0,1	t	0,7	t	0,7	t	0,1	0,1	0,2	t	-	t	t	*	9S4
Canfeno	0,8	1,8	0,5	0,6	2,2	0,3	0,9	0,7	0,7	2,2	4,0	1,8	0,4	2,0	1,6	t	t	0,1	*	
β -Pinenol	5,0	10,6	3,0	2,3	8,8	12,3	13,4	8,6	10,9	8,7	20,6	20,6	3,1	5,8	4,3	0,2	0,3	20,8	*	
Sabineno	0,9	t	0,1	0,2	0,2	t	t	t	t	-	0,1	0,1	t	1,3	0,5	-	-	-	*	
Δ -3-Careno	-	0,7	0,5	0,9	1,9	2,1	0,3	0,4	0,4	1,5	2,4	0,5	0,2	7,0	1,3	0,9	0,3	0,8	*	
Mirceno	1,0	0,1	0,9	1,1	0,1	t	1,6	0,6	0,4	0,8	0,8	0,1	1,3	2,6	0,2	0,4	t	2,3	*	
α -Felandreno	-	0,7	0,1	0,4	1,1	0,9	0,9	0,2	0,5	-	0,4	0,4	0,5	0,8	0,9	-	0,3	0,8	*	
α -Terpineno	1,5	5,4	1,7	2,0	4,9	5,3	2,2	2,0	2,6	3,4	4,7	1,3	1,3	2,9	3,4	0,9	0,8	0,9	*	
Limoneno	1,1	0,7	0,8	0,3	t	t	1,9	2,4	0,4	0,9	0,2	0,2	1,2	1,0	0,8	0,8	t	14,0	*	
β -Felandreno	15,9	7,1	4,6	6,8	10,1	11,7	2,0	2,7	10,1	5,1	8,6	13,2	12,8	16,6	4,5	1,0	0,2	-	*	
1,8-Cineol	-	-	-	0,3	-	-	t	-	t	-	-	-	-	0,6	-	-	0,2	-	*	
2-Pentilfurano	2,4	1,3	0,3	1,9	1,8	1,5	1,6	0,3	1,1	1,5	0,4	0,4	0,8	2,4	1,0	1,9	1,1	5,1	*	
γ -Terpineno	1,5	0,4	0,8	0,8	1,6	2,0	12,3	19,8	1,1	1,9	0,2	0,2	0,7	2,3	3,7	5,2	1,2	4,8	*	
p-Cimeno	0,5	0,1	0,1	0,2	0,4	0,5	0,3	-	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,6	0,2	0,3	0,2	0,7	*	
Terpinoleno	-	t	-	0,1	0,1	t	-	-	-	-	-	-	-	2,0	0,2	-	1,0	0,5	*	
1-Hexanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	*	
Hexanol	6,1	3,5	1,9	7,8	12,4	12,2	1,7	0,6	2,4	2,6	-	-	-	0,9	8,0	3,0	1,1	2,3	*	
Fenchona																			*	

[illegible]

A P P E N D I C E III

DIAGRAMAS DE LOS CROMATOGRAMAS



551 FLAVOUIRENS

10 20 30 40 50 60 70 80 90

951 FLAVOUIRENS

154.

10 20 30 40 50 60 70 80 90

552 LEUCANTHA

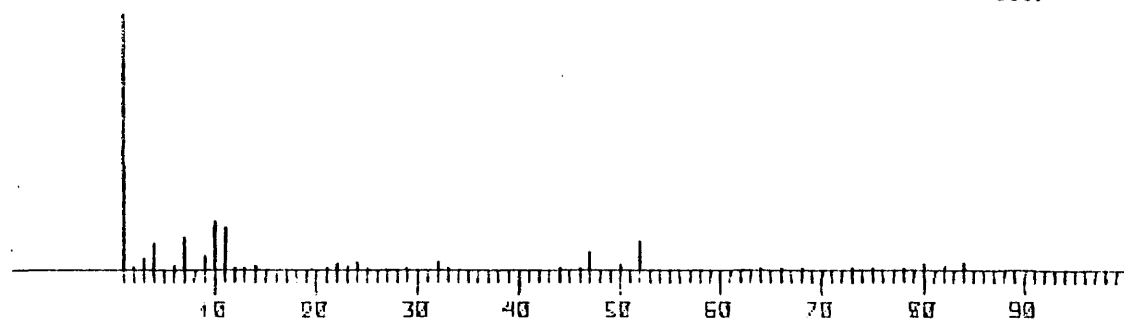
10 20 30 40 50 60 70 80 90

852 LEUCANTHA

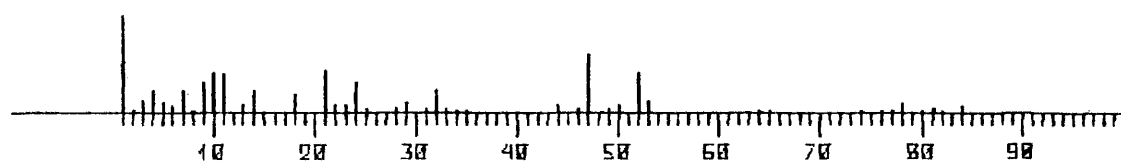
10 20 30 40 50 60 70 80 90

753 HIRSUTA

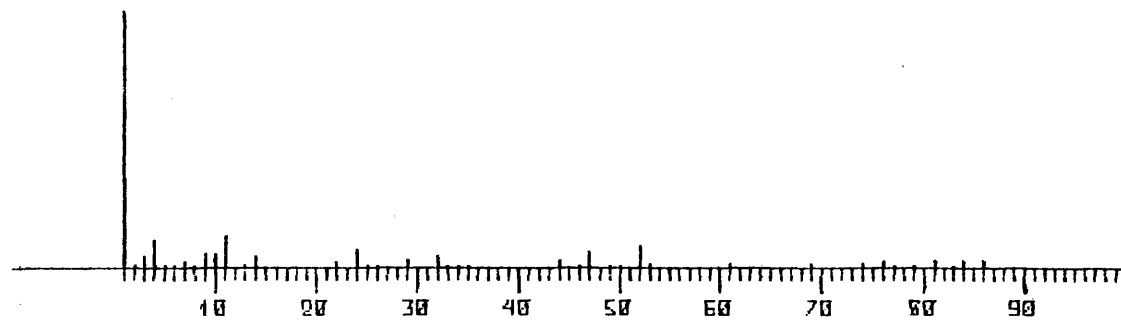
155.



853/1 HIRSUTA

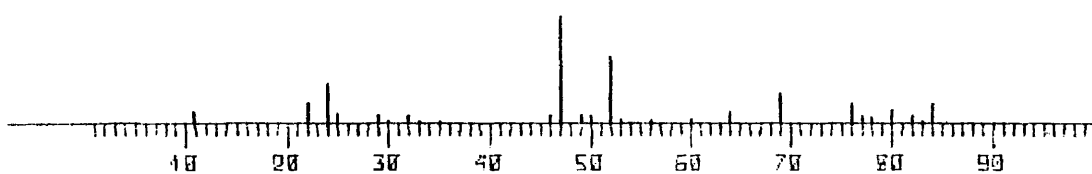


853/2 HIRSUTA

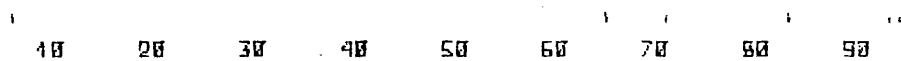


853/3 HIRSUTA

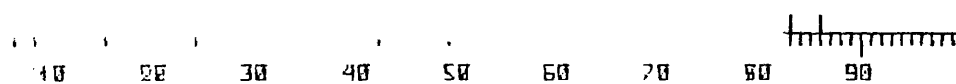
156.



853/4 HIRSUTA

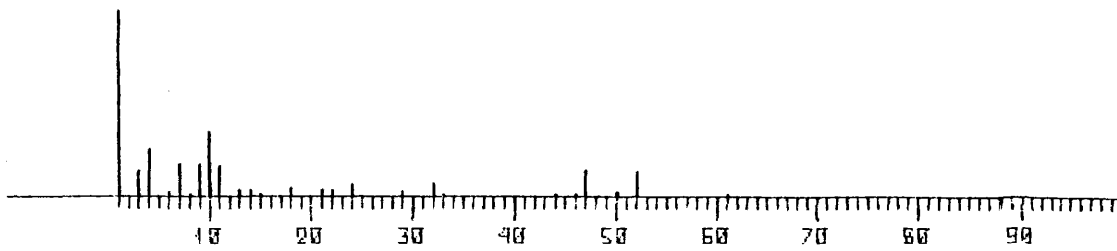


853/5 HIRSUTA

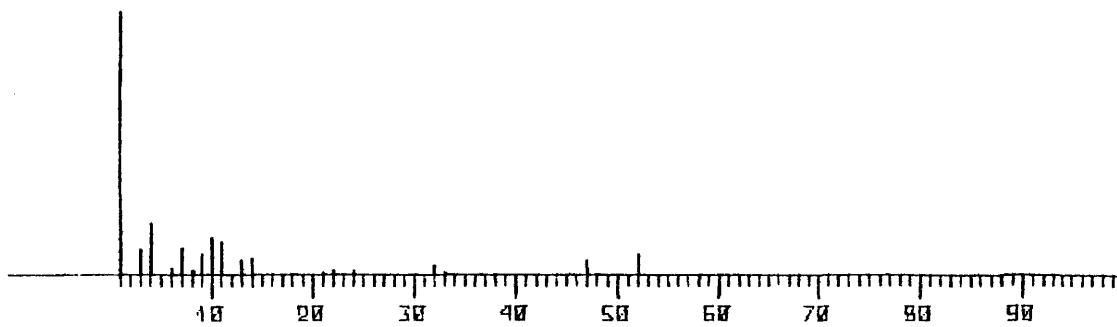


853/6 HIRSUTA

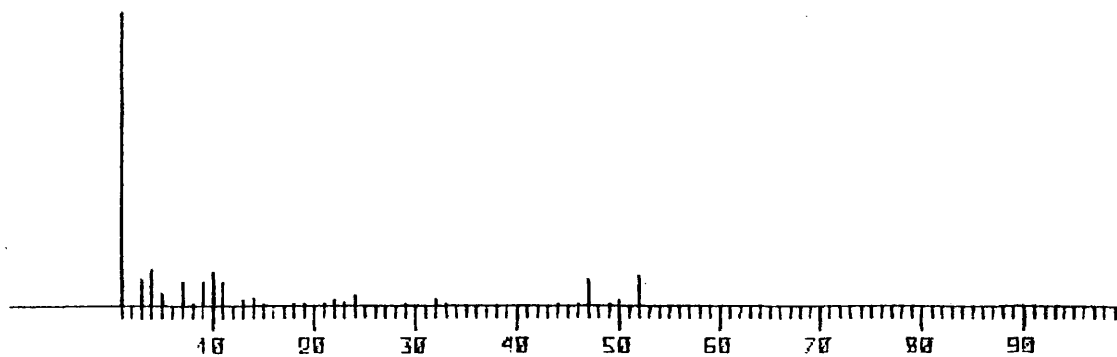
157.



953/7 HIRSUTA

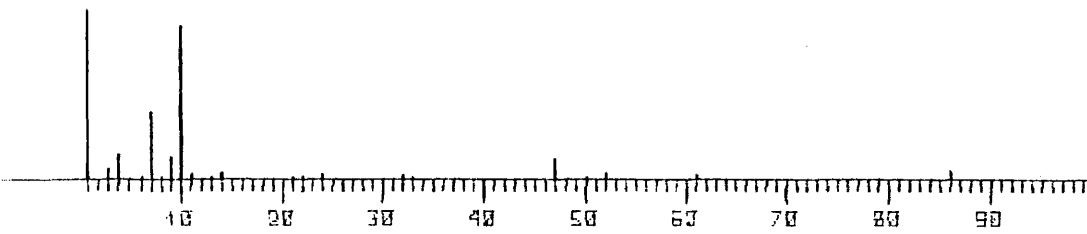


953/8 HIRSUTA



953/9 HIRSUTA

158.



953/10 HIRSUTA

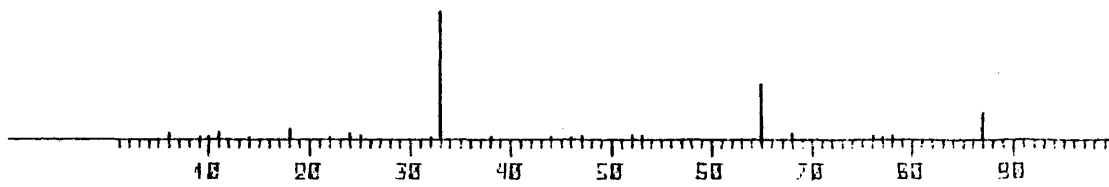
10 20 30 40 50 60 70 80 90

953/11 HIRSUTA

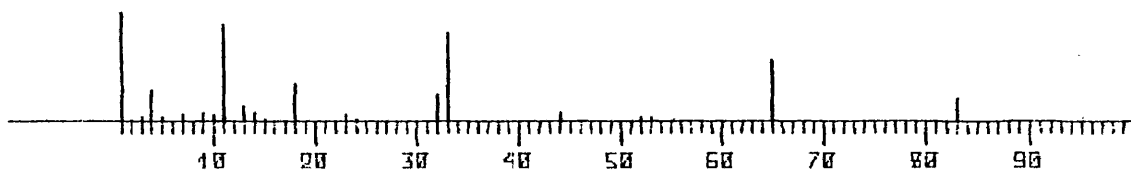
10 20 30 40 50 60 70 80 90

953/12 HIRSUTA

159.



855 CHAMAEDRYFOLIA

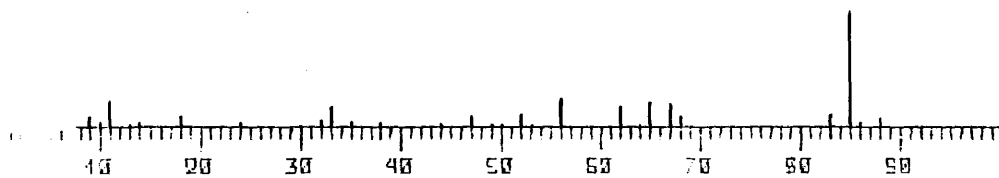


56 TRACORIGANUM

10 20 30 40 50 60 70 80 90

856/1 TRACORIGANUM

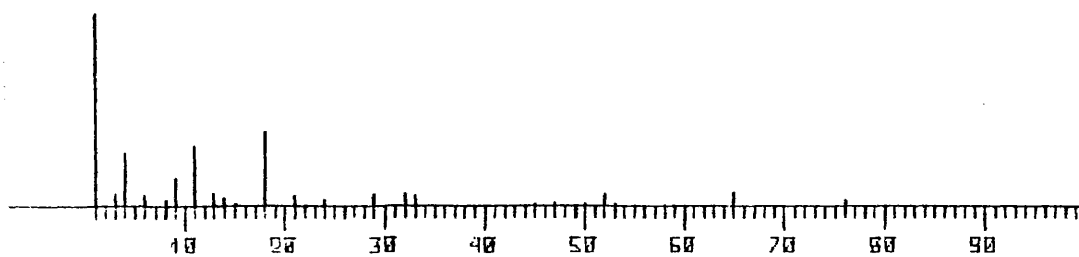
160.



856/2 TRAGORIGANUM

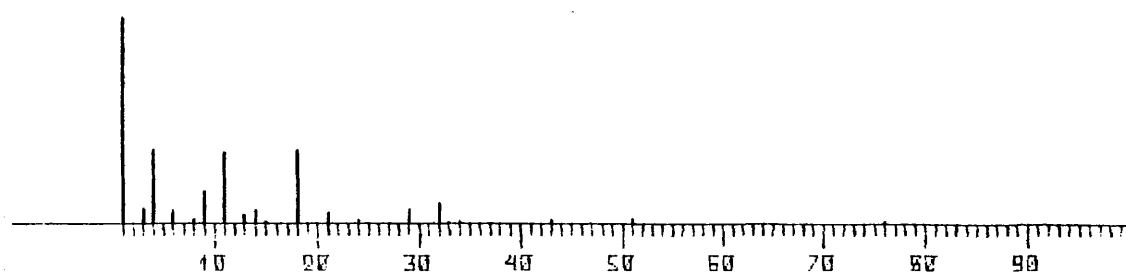


856/3 TRAGORIGANUM

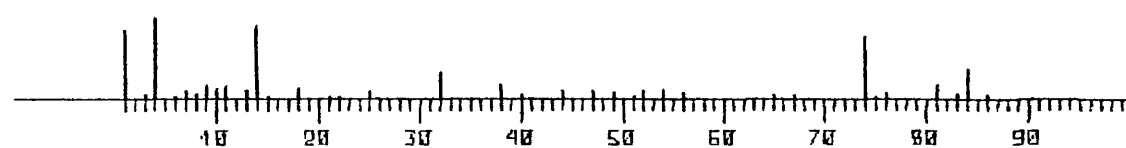


757/1 PUSILLA

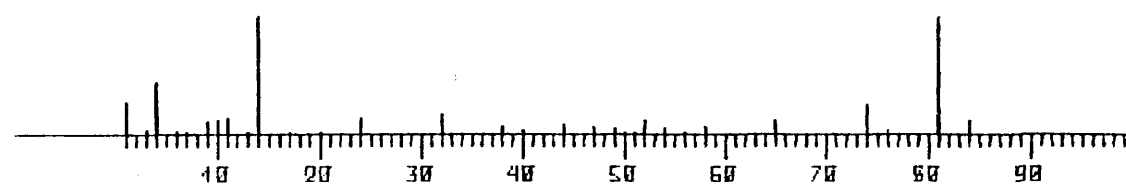
161.



757/2 FUSILLA

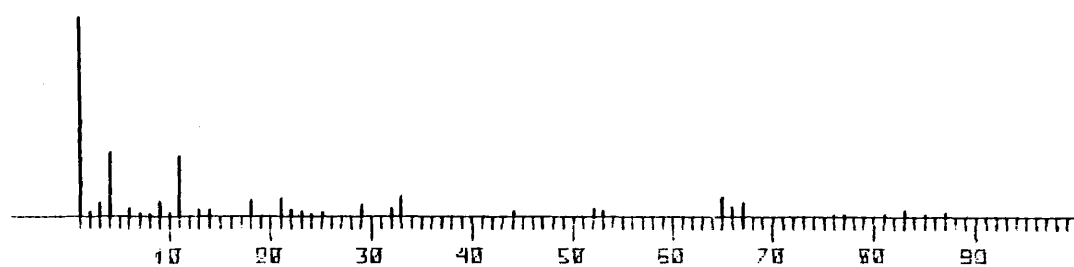


758/1 FOETENS



758/2 FOETENS

162.



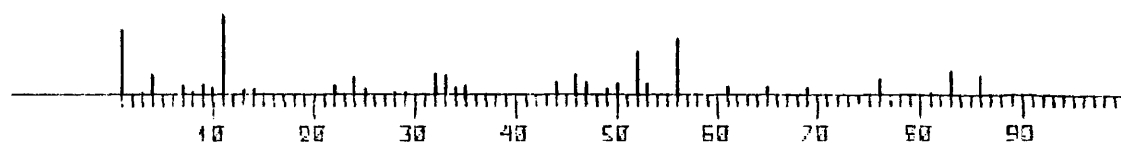
59 LEUCANTHA VAR. BOURGEANA

10 20 30 40 50 60 70 80 90

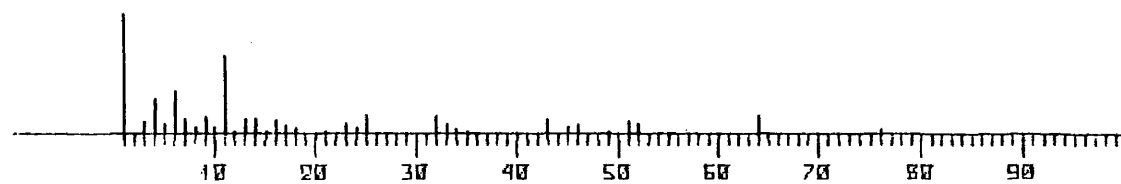
959 LEUCANTHA VAR. BOURGEANA

10 20 30 40 50 60 70 80 90

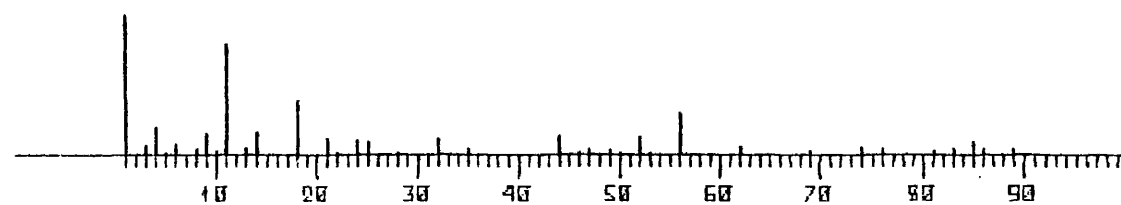
8510 SERRATA



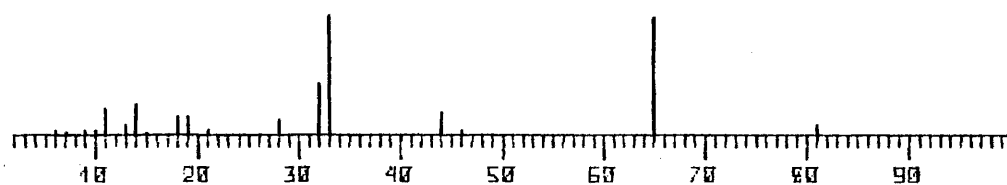
8511 MUGRONENSIS



8512 SPINULOSA



513 ANGUSTIFOLIA



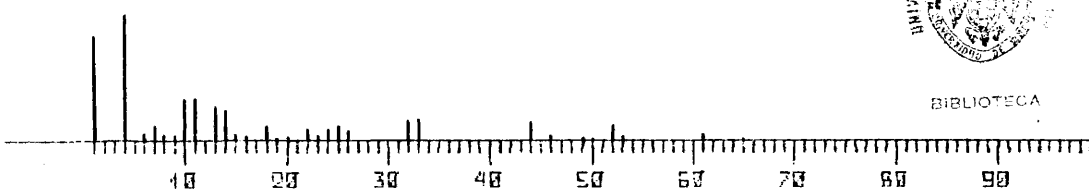
S15 ARBORESCENS

10 20 30 40 50 60 70 80 90

S17 ILICIFOLIA



BIBLIOTECA



S18 LINEARIFOLIA